Aus dem Anatomischen Institut
der Freien Universität Berlin

Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. H.-J. Merker

DIE WIRKUNG VON TETRACHLORKOHLENSTOFF AUF DIE EMBRYONALE MÄUSELEBER

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hartmut Reiner
aus Berlin

1977

Aus dem Anatomischen Institut
der Freien Universität Berlin

Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. H.-J. Merker

DIE WIRKUNG VON TETRACHLORKOHLENSTOFF AUF DIE EMBRYONALE MÄUSELEBER

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hartmut Reiner
aus Berlin

Referent: Prof. Dr. H.-J. Merker
Koreferent: Prof. Dr. M. Vogel

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 23. November 1977

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	Seite 1 - 12
2.	Material und Methode	Seite 13 - 15
2.1	Morphometrische Untersuchungen	Seite 16
3.	Lichtmikroskopische Befunde	Seite 17 - 24
4.	Elektronenmikroskopische Befunde	Seite 25 - 33
5.	Morphometrische Befunde	Seite 34 - 35
6.	Diskussion	Seite 36 - 42
7.	Zusammenfassung	Seite 43 - 44
8.	Literaturverzeichnis	Seite 45 - 59
	Bildteil	

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549607_0013

1, Einleitung

In der wissenschaftlichen Literatur läßt sich eine unübersehbare Zahl an Veröffentlichungen finden, die die Wirkung von Tetrachlorkohlenstoff auf die Leberparenchymzellen in morphologischer und histochemischer Hinsicht beschreiben.

Die ersten Berichte über die hepatotoxische Wirkung gehen bis in das 19. Jahrhundert zurück, in dem neben Chloroform auch Tetrachlorkohlenstoff als Anästhetikum eingesetzt wurde (HARDIN, 1954). Doch man erkannte sehr bald die negativen Auswirkungen des Tetrachlorkohlenstoffs auf die Leber, denn oral oder inhalatorisch aufgenommen erzeugte der Stoff eine akute gelbe Leberdystrophie. Im 19. und 20. Jahrhundert erlangte Tetrachlorkohlenstoff als Industriegift medizinisches Interesse. Als Anthelminticum wurde dieser Stoff Anfang des 20. Jahrhunderts trotz der bis dahin bekannten Nebenwirkung in die Therapie eingeführt (KONDOS, Mc Cymont, 1965).

Heutzutage findet Tetrachlorkohlenstoff nur noch in der experimentellen Leberforschung medizinische Anwendung. So wurde zum Beispiel die protektive Wirkung einer Hypothermiebehandlung oder einer über längere Zeit durchgeführte Eiweißmangeldiät bei CCl_4-induzierter Leberschädigung an Laboratoriumstieren untersucht und als therapeutische Maßnahme auch beim Menschen propagiert (BARTSOKAS, PAPADIMITRION et al., 1973; THOM, SCHLICHT, 1973; DAVID, 1968).

Obwohl die Auswirkungen einer CCl_4-Intoxikation auf die Hepatocyten schon lange bekannt sind, bestehen bis heute noch Unklarheiten über den genauen Wirkungsmechanismus des Tetrachlorkohlenstoffs. Zuerst wurde eine Zellschädigung allein auf eine verminderte Perfusion der Leber zurückgeführt (SUNDARESON, 1942). Später schuldigte man die Blockierung des Transports von Fettsäuren in Form von Phospholipiden als Ursache für die fettige Degeneration der Leber an. Diese These wurde aber aufgegeben, nachdem man eine Schädigung der Lebermitochondrien nach Tetrachlorkohlenstoffgabe beobachtete. CCl_4 sollte demnach über eine Zerstörung der Mitochondrienmembranen den Energiehaushalt der Zellen ausschalten, was eine Fettansammlung aufgrund der ausbleibenden Lipidoxidation zur Folge hatte. Darüberhinaus konnte gezeigt werden, daß unter CCl_4-Einfluß der Transport großer Mengen von Triglyceriden von der Leber in das Plasma blockiert wurde (GOLDMANN, CHAILKOV et al., 1950). Es ließ sich später beweisen, daß unter CCl_4 nicht nur die Synthese der Lipoproteine, sondern auch die Wiederaufnahme von Triglycerid-freiem Apoprotein in die Zelle vermindert waren. Beide Tatsachen zusammen könnten die fettige Dystrophie der Leberparenchymzellen erklären. Auf die Bedeutung des sympathischen Nervensystems bei der Tetrachlorkohlenstoffvergiftung weisen CALVERT, BRODY et al., 1960 hin. Danach ist die Leberverfettung nicht allein die Folge eines direkten Angriffs des CCl_4 auf die Membranstrukturen der Hepatocyten, sondern als Ausdruck einer maximalen Stimulierung

des sympathischen Nervensystems zu werten. Es ließ sich belegen, daß Ratten relativ immun gegenüber der hepatotoxischen Wirkung des Tetrachlorkohlenstoffs werden, wenn ihnen vorher das Lendenmark durchtrennt wurde.

Nach den heutigen Vorstellungen weist Tetrachlorkohlenstoff einen komplexen Wirkungsmechanismus auf. Chemisch ist Tetrachlorkohlenstoff eine farblose, schlecht wasserlösliche, süßlich riechende und relativ inerte Flüssigkeit, die in der Technik als Lösungsmittel für Fette, Öle und Harze Verwendung findet. Von allen hepatotoxischen Substanzen wird Tetrachlorkohlenstoff zu den direkt wirkenden Lebertoxinen gezählt. Die Kriterien der direkten hepatotoxischen Wirkung sind das obligate Auftreten, die Dosisabhängigkeit und die Reproduzierbarkeit. Wegen seiner guten lipidlöslichen Eigenschaft findet sich bei Tetrachlorkohlenstoffvergiftung eine nahezu vollständige Resorption. So kann CCl_4 inhalatorisch, parenteral, peroral oder percutan verabreicht werden. Bei Überschreitung einer Schwellendosis - bei der Maus zwischen 0,001 und 0,005 ml/kg Körpergewicht (GERHARD, SCHULTZE et al., 1970) - ist in jedem Fall eine leberschädigende Wirkung zu erwarten.

Aufgrund seiner ausgezeichneten Lipidlöslichkeit greift CCl_4 direkt die Lipidstrukturen aller Membranen an, löst den Lipidanteil heraus und bewirkt so eine Membran- und nachfolgend eine Zellschädigung, was HÜBNER 1965 an in vitro Versuchen demonstrieren konnte. Seine Ergebnisse stimmten weitgehend mit in vivo Beobachtungen überein.

Bei der peroralen Tetrachlorkohlenstoffintoxikation kommt ein komplizierter Wirkungsmechanismus zum Tragen. CCl_4 gelangt in die Leberzelle und lagert sich dort an das granulierte endoplasmatische Retikulum an. Mit Hilfe des abbauenden Enzymsystems entstehen in der Leberzelle während der Reduktion des CCl_4/Cytochrom P-450-Komplexes unter Vermittlung der Cytochrom-P-450-Reductase die Radikale $^{\cdot}CCl_3$ und $^{\cdot}Cl$, die darauf den Prozeß der Lipid-Peroxydation einleiten. Diese Radikale Cytochrom-P-450 reagieren nun ihrerseits mit ungesättigten Lipiden unter Bildung weiterer instabiler organischer Radikale. Diese bilden mit Sauerstoff instabile Peroxyde, wie zum Beispiel Lipoperoxyde, Lipohydroxyperoxyde und Aldehyde, die nach Reaktion mit anderen organischen Säuren weitere labile Peroxyde entstehen lassen. Diese wie eine Kettenreaktion ablaufende Peroxydation von Lipiden führt zur Schädigung der Membranen des endoplasmatischen Retikulums und anderer Zellorganellen, wie zum Beispiel der Mitochondrien, was sich an den Veränderungen der in diesen Membransystemen lokalisierten Enzymen biochemisch nachweisen läßt. So vermindert sich bei der akuten Tetrachlorkohlenstoffvergiftung die Glukuronyltransferase und das Cytochrom P 450, während beim chronischen CCl_4-Schaden die NADPH-Cytochrom-c-Reduktase ansteigt (CASTRO, DIAZ GOMEZ et al., 1972; NAYAK, RAMALINGASWAMI, 1970).

Im weiteren Verlauf der toxischen Wirkung lösen sich die Ribosomen von den Membranen des granulierten endoplasmatischen Retikulums ab. Die Zisternen des endoplasmatischen Retikulums dilatieren und zeigen Vesikulation neben der Des-

aggregation der Polysomen. Dadurch wird die Proteinbiosynthese gestört, die nun auf der Stufe der Polypeptide stehenbleibt. Hieraus resultiert eine verminderte Bildung von Proteinen. Es kommt in der Folge dann durch die eingeschränkte Lipoproteinproduktion zu einer klein- bis großtropfigen Verfettung des Cytoplasmas der Leberzelle vom Zentrum gegen die Läppchenperipherie hin fortschreitend und zu einer weiteren Schädigung der Membransysteme der Zelle. Damit geht auch eine Steigerung der Permeabilität der Zellmembranen und ihrer Organellen einher. Dieser Vorgang läßt sich besonders gut an der Mitochondrienmembran demonstrieren. Die Hemmung der oxidativen Phosphorylierung bewirken zusammen mit dem ATP-Verlust das Versagen der ATP-abhängigen Natrium-Kalium-Pumpe, wodurch Wasser und Elektrolyte in die Mitochondrien penetrieren können. Daneben dringen auch Kalzium und Magnesium in den Matrixraum ein und lassen sich dort für ungefähr ein bis zwei Stunden histochemisch nachweisen und bei geeigneter Färbung im Mikroskop erkennen (BENEKE, SIMON, 1961; HÜBNER, 1965; LEDUC, WILSON, 1958; REYNOLDS, 1963). Entsprechende Veränderungen nach Tetrachlorkohlenstoffvergiftung sind auch im Cytoplasma der Leberzelle zu beobachten. Durch die Zerstörung ihres energieliefernden Apparates ist die Zelle gezwungen, zur Deckung ihres Energiebedarfs auf die anaerobe Glykolyse umzuschalten. Da aber diese Art der Energiegewinnung für ein gesundes Leben der Zelle nicht ausreichend ist, kommt es durch Anhäufung von Säuren zur Acidose und schließlich zum Untergang der Leberzelle.

Eine schädigende Wirkung des Tetrachlorkohlenstoffs auf die Zelle durch Beeinflussung ihrer Phagolysomen soll nach MEGO und CAIN (1973) eine untergeordnete Rolle spielen. Trotz aller Ergebnisse der Morphologie und Histochemie ist der Wirkungsmechanismus des Tetrachlorkohlenstoffs auf die Leberzelle und ihre Organellen noch nicht völlig aufgeklärt und vieles noch Hypothese.

Obwohl die gesamte Oberfläche der geschädigten Leber ein gelbliches Aussehen zeigt und dabei leicht verletzlich erscheint, ist je nach Applikationsart von CCl_4 auch der Sitz der Schädigung im Leberläppchen bei lichtmikroskopischer Betrachtung verschieden. So entsteht zuerst bei intralienaler oder intraportaler CCl_4-Verabreichung in der Peripherie des Lobulus degenerative Veränderungen an den Hepatocyten (BENEKE, SIMON, 1961; HÜBNER, 1965; Mc LOSKEY, Mc GEHEE, 1969). Das Läppchenzentrum und die Intermediärzone sind hingegen bei enteraler oder subcutaner CCl_4-Gabe betroffen (GERHARD, SCHULTZE et al., 1970; NAYAK, PREM CHOPRA et al., 1970), was biochemisch an der Enzymaktivität und autoradiographisch an der Hemmung der Proteinbiosynthese in diesen Bezirken abzulesen ist. Die unterschiedlich lokalisierten Nekroseherde werden als Ausdruck einer zonalen Gliederung des Leberläppchens und unterschiedlicher Empfindlichkeit der Parenchymzellen gegenüber Toxinen angesehen (RAPPAPORT, 1960).

Auch zeigt sich eine Verminderung mitochondrialer Enzyme bei intralienaler oder intraportaler Tetrachlorkohlenstoffgabe eher als bei enteraler (HÜBNER, 1965; HENRI, REMMER, 1971; CASTRO, DIAZ GOMEZ et al., 1972).

Im Lichtmikroskop ist schon 20 Sekunden nach der CCl_4-Intoxikation eine leichte Blutleere in den betroffenen Arealen des Leberläppchens nachweisbar. 15 bis 30 Minuten nach oraler oder subcutaner Tetrachlorkohlenstoffintoxikation fanden LEDUC und WILSON 1958 im Lichtmikroskop eine läppchenzentrale Verarmung der Zellen an Glykogen, die schließlich so weit zunahm, daß nach 90 bis 180 Minuten eine scharfe Grenze zwischen den zentrolobulären glykogenarmen und periporalen glykogenreichen Zellen besteht. Ungefähr zur gleichen Zeit - 15 - 30 Minuten nach der Noxe - beginnt langsam der Schwund der Basophilie in den zentralen Anteilen des Leberläppchens, der sich derart verstärkt, daß nach 15 bis 18 Stunden alle anfärbbaren Nucleoproteine verschwunden sind. Bald nach dem Basophilieschwund der Zelle beginnt das 1852 von VIRCHOW beschriebene Phänomen der trüben Schwellung. Es beruht auf einem Einstrom von Wasser und Elektrolyten durch die geschädigten Membranen hindurch in die Zelle und ihrer Organellen. Es kommt zur sogenannten Ballonierung der Zellen mit Hydrops des Grundplasmas. Später entrunden sich zunächst die läppchenzentralen Mitochondrien und quellen ungefähr acht Stunden nach Tetrachlorkohlenstoffgabe auf. Nach weiteren vier Stunden findet man lichtmikroskopisch häufig die Mitochondrien in den geschädigten Hepatocyten verklumpt (LEDUC, WILSON, 1958).

Als weiterer Ausdruck einer CCl_4-induzierten Membranschädigung ist das reversible Auftreten von Kalzium im Cytoplasma und in den Mitochondrien zu werten. Besonders perizentral und in der Mittel-

region ergaben histochemische Untersuchungen einen Anstieg von Kalzium von normal 24 µg Ca auf Werte über 105 µg Ca/gm Leber. Drei Stunden später erreichen die Zellen ihren normalen Kalziumgehalt wieder, was auch im Lichtmikroskop gut beobachtet werden kann.

Wie oben ausgeführt, verarmt die durch Tetrachlorkohlenstoff geschädigte Zelle nach Zerstörung der Mitochondrienmembran an energieliefernden Stoffen, was zusammen mit der verminderten Proteinsynthese zur sogenannten fettigen Dystrophie führt. Tatsächlich erscheint nach subcutaner CCl_4-Gabe bei geeigneter Anfärbung des Präparats Neutralfett zuerst zentolobulär und später auch in den periportalen Abschnitten im Lichtmikroskop. Nach zehn Stunden wird dann die Nekrose als solche lichtmikroskopisch sichtbar.

Die Kerne der geschädigten Zellen scheinen in den zentrolobulären Abschnitten zunächst unverändert zu bleiben. Allmählich erfahren sie Veränderungen wie Pyknose, Karyolyse oder Fragmentation. Die Kerne der betroffenen Zellen beginnen dann zu schrumpfen, und lassen sich schlechter anfärben als die Kerne der ungeschädigten Hepatocyten.

Bei elektronenmikroskopischer Betrachtung finden sich eindrucksvolle Veränderungen. So treten kurz nach intralienaler Tetrachlorkohlenstoffintoxikation membranöse und tubuläre Strukturen im Grundplasma auf, die zum Teil mit den Membranen des endoplasmatischen Retikulums in Verbindung stehen. Das Ergastoplasma erscheint dabei dilatiert und zeigt rundliche Vakuolen in den Zisternen, die mit

einer feingranulären amorphen Ablagerung gefüllt sind. Die Ribosomen beginnen sich von den Außenmembranen des granulären endoplasmatischen Retikulums zu lösen und liegen in steigender Anzahl frei in der Matrix des Cytoplasmas in enger Nachbarschaft zum Ergastoplasma. Später werden die ribosomenfreien Anteile des rauhen endoplasmatischen Retikulums osmiophiler und zeigen einen totalen Kollaps der Zisternenzwischenräume, so daß es zur Verschmelzung benachbarter Membranen kommt (SHINOZUKA, 1971). Diese neu entstandenen Membranen weise eine deutliche Dreischichtung auf. In der Mitte findet sich ein dicker osmiophiler Bezirk. Neben diesen kollabierten Membranen des granulierten endoplasmatischen Retikulums sind in vielen Bezirken agranuläre Membranvesikel beschrieben worden, deren Ursprung und Funktion weitgehend unklar sind.

Auch die Golgi-Apparate sind bei der Tetrachlorkohlenstoffvergiftung in Mitleidenschaft gezogen. Zuerst zeigen sie sich nur im Läppchenzentrum als rundliche Trauben dilatierter, elektronenoptisch freier Vakuolen, die dann später auch in allen anderen Regionen des Leberläppchens anzutreffen sind. Im Gegensatz zum endoplasmatischen Retikulum erscheinen im glatten agranulären endoplasmatischen Retikulum wie auch in den Golgi-Apparaten normaler, nicht behandelter Leberzellen dichte Partikel mit einem Durchmesser von 600 - 800 Å (REYNOLDS, 1963). Derartige Partikel treten auch in den Disse'schen Räumen zwischen den Microvilli auf. Daneben verändern sich die Microvilli unter

Tetrachlorkohlenstoffeinfluß in Bezug auf ihre Gestalt. Sie ziehen sich in ihrer Länge aus, werden in ihrer Darstellung undeutlicher und führen durch ihre Schwellung zur partiellen Obliteration des Disse'schen Raumes. Auch im Bereich der Gallekapillaren und an den sinusoidalen Grenzlinien wird der Verlust der Microvilli nach intralienaler CCl_4-Gabe beobachtet (HÜBNER, 1965). Eine Schwellung der Endothel- und der von Kupffer'schen Zellen sind ebenfalls auffällig. Später als das Ergastoplasma werden die Membranen der Mitochondrien geschädigt. SANDRITTER (1975) wies auf die morphologischen Besonderheiten der Lebermitochondrien hin. Normale Leberzellen enthalten im Zentrum längere und auch dünnere Mitochondrien als das Periportalfeld. Außerdem besitzen sie bei vergrößertem Matrixraum relativ weniger Cristae. Zunächst bleibt ein normales Verhältnis zwischen den Cristae und der Matrix erhalten. Zu dieser Zeit ist keine Veränderung in ihrer Dichte erkennbar. Erst ein bis zwei Stunden nach der CCl_4-Schädigung nehmen die Mitochondrien ein bizarres Aussehen an. Unter zunehmender Verlängerung legen sie sich um andere Zellorganellen herum, wobei ihre Außen- und Innenmembranen noch intakt erscheinen. Allmählich wird die Kontur ihrer Membranen unschärfer, und es entstehen knospenähnliche Vorwölbungen. Zwanzig Sekunden nach intralienaler CCl_4-Applikation entdeckte HÜBNER 1965 im Elektronenmikroskop eine deutliche Dreischichtung an den Mitochondrienmembranen, die auch partiell aufgesplittert in Erscheinung traten. Dabei wurden auch membranartige

tubuläre Neubildungen beobachtet, die schon nach fünf Minuten zu einer im Elektronenmikroskop nicht weiter auflösbaren Masse zusammenfließen.

Während die Morphologie der Leberschädigung nach CCl_4 und anderen Lebertoxinen nach lichtmikroskopischen und elektronenmikroskopischen Beobachtungen häufig publiziert wurden, liegen recht wenig Angaben über die fetotoxischen Wirkungen dieser Stoffe vor.

Nur vereinzelt ist das Verhalten der Hepatocyten von Foeten und Neugeborenen auf praenatale Schäden beschrieben worden. So ist erst seit kurzem bekannt, daß praenatal verabreichte Röntgenstrahlen neben Membranschäden und sog. Polyribosomenaggregaten auch ein verzögertes Auftreten von glattem ER an postnatalen Hepatocyten begünstigt (CHEDID, NAIR, 1975). Veränderungen am ER durch praenatale Applikation von Benzpyren an fetalen Lebern wurden ebenfalls beobachtet. Während die mütterlichen Lebern keinerlei Veränderungen auf die Benzpyrengabe zeigten, erschien das ER an den fetalen Hepatocyten nur etwas ausgezogen bzw. verlängert (SCHLEDE, MERKER, 1971).

Ähnliche fetotoxische Effekte ließen sich auch bei der praenatalen Tetrachlorkohlenstoffvergiftung nachweisen. So wurde neben einer Beeinträchtigung der Kopf-Rumpf-Länge an den Foeten (SCHWETZ, LEONG et al., 1973) auch eine Schädigung fetaler Hepatocyten erwähnt.

Die Veränderungen an den Leberzellen sind dann besonders ausgeprägt, wenn CCl_4 am Ende der Schwangerschaft verabreicht wurde. In den geschädigten Hepatocyten stieg der Anteil von freiem Fett an, während der Glykogengehalt in ihnen stark abfiel (TSIRELNIKOW, DOBOROVOLSKAYA, 1973).

Dabei schienen die einzelnen Parenchymzellen geschwollen. Ihr Cytoplasma war bis auf eine schmale Randzone mit Vakuolen durchsetzt. Die Kerne vieler Hepytocyten waren verdämmert oder zumindest verzogen (SUNDARESON, 1942).

Aus diesen Überlegungen geht hervor, daß die praenatale Schädigung der Leber bisher nur an Hand von Einzelbeispielen beschrieben ist. Eine systematische Untersuchung, die mehrere Substanzen und auch die Zeitabhängigkeit berücksichtigt, liegt noch nicht vor. Außerdem ist nichts über die Persistenz und über die mögliche Bedeutung solcher praenatalen Schäden für das postnatale Verhalten der Leber bekannt.

In der folgenden Arbeit soll mit dem klassischen Modell der CCl_4-Schädigung versucht werden, eine praenatale Leberschädigung zu setzen und die möglichen Folgen zu dokumentieren.

2. Material und Methode

Es wurden primipare Albinomäuse des Stammes NMRI untersucht, die bei verschobenem Tag-Nacht-Rhythmus unter den üblichen Standardbedingungen gehalten wurden. Dadurch konnten den weiblichen Tieren im Östrus Böcke in der Zeit zwischen 8.00 und 8.30 Uhr zugesetzt werden. Nach Abstrichkontrolle waren danach mindestens 80 % der weiblichen Tiere spermienpositiv.

Die der Konzeption folgenden 24 Stunden werden als Tag 0 bezeichnet, der am nächsten Tag um 8.00 Uhr beendet ist. Der Geburtstag der Jungtiere gilt als Tag 0 der Nachgeburtsperiode.

CCl_4-Applikation

Die schwangeren 30 - 40 g schweren Tiere wurden in fünf Gruppen zu je vier Tieren aufgeteilt. Die Muttertiere aus der Kontrollgruppe blieben zum Teil unbehandelt, zum Teil erhielten sie peroral reines Olivenöl. Die anderen Tiere der Gruppe 1 wurden am 15. Gestationstag, die der Gruppe 2 am 16., die aus der Gruppe 3 am 17. und die der Gruppe 4 am 18. Schwangerschaftstag jeweils nur mit einer einzelnen Dosis von 1,0 ml CCl_4/kg Körpergewicht, in Olivenöl gelöst und peroral durch einen Magenschlauch appliziert, behandelt. Alle Muttertiere vertrugen die CCl_4-Applikation gut und schienen in ihrem Verhalten unverändert. Die Schwangerschaft wurde bei allen Tieren ausgetragen.

Erwähnenswert ist die Tatsache, daß alle neugeborenen Mäuse aus der Gruppe 1 von den Muttertieren an- bzw. aufgefressen wurden.

Die Inspektion der Lebern von Foeten, Muttertieren und Jungtieren aus den Kontroll- und behandelten Gruppen erfolgte bis zur Geburt 24 und 48 Stunden nach der Tetrachlorkohlenstoffapplikation und post partum am 1., 3., 6., 10., 14., 19. und 24. Lebenstag. Zu diesem Zweck wurden die Muttertiere nach Ätherrausch durch Decapitation getötet, die Embryonen aus dem Uterus befreit und den Tieren jeweils ein Teil des rechten und linken Leberlappens entnommen. Nach Zerkleinerung des Materials mit einer Rasierklinge erfolgte die Fixierung. Die gekühlte Fixierlösung bestand aus 3 % Glutaraldehyd und 3 % Paraformaldehyd in Cacodylatpuffer bei einem pH von 7,2 - 7,4. Nach einstündiger Fixierung wurde mit einer 1%igen 0,1 ml Cycodylat gepufferten Osmiumsäurelösung über zwei Stunden nachfixiert. Bessere Ergebnisse erzielten wir bei direkter Osmiumfixierung, die bei einem Teil unseres Materials angewandt wurde. Anschließend wurde das Material in aufsteigender Acetonreihe entwässert und in Micropal eingebettet. Nach 3-tägiger Polymerisation wurden die Micropalblöcke ausgesägt, mit einer Rasierklinge zugespitzt und zur lichtmikroskopischen Beurteilung am Porter Blum MT 2 Microtom 1 µ dicke Schnitte angefertigt, die mit 1 %iger wässriger Giemsalösung mit Boraxzusatz unter kurzer Erwärmung bis zur Dampfentwicklung gefärbt wurden.

Zur elektronenmikroskopischen Auswertung der Leberproben wurden am LK Ultrotome II etwa 300 - 500 Å dicke Schnitte hergestellt, auf mit "Formvar" überzogene Kupfernetze gebracht und mit Uranylacetat

und Bleicitrat nachkontrastiert. Die Betrachtung der Schnitte erfolgte am ZEISS EM 10 mit einer Primärvergrößerung von 700 - 25 000 bei einer Strahlenspannung von 80 kV. Zur Dokumentation wurden die untersuchten Leberproben fotografisch festgehalten und auf Kontaktabzügen ausgewertet.

2.1 Morphometrische Untersuchungen

Um eine Größenzunahme bzw. Schwellung der Lebermitochondrien nach Tetrachlorkohlenstoffgabe objektivieren zu können, wurden von den elektronenmikroskopischen Bildern der Tage 18 ante partum und 1 post partum Papierabzüge mit einheitlicher Vergrößerung von 30 000 angefertigt. Alle erkennbaren Lebermitochondrien wurden sorgfältig von diesen Papierabzügen mit einem Tuschezeichner auf Transparentpapier abgepaust. Die so übertragenen Mitochondrien wurden dann einzeln auf ein zum Quantimet 720 B gehöriges Epidiaskop gelegt und mittels einer Vidicon-TV-Kamera (Objektiv f = 44 mm) auf den Monitor des Quantimet projeziert und dort die Umfänge und Flächen der Mitochondrien als Bildpunkte gemessen. Bei diesem Verfahren entsprechen 50 Å einem Bildpunkt auf dem Monitor. Für nähere Einzelheiten derartiger morphometrischer Messungen am Quantimet 720 B sei auf die 1974 veröffentlichte Arbeit von ADHAMI, NOACK et al. verwiesen.

Die statistische Auswertung der Meßdaten erfolgte nach Übertragung der Werte auf Lochkarten am CDC 6 000 in der Zentraleinrichtung Datenverarbeitung der Freien Universität Berlin nach dem TST-Test nach STUDENT.

3. Lichtmikroskopische Befunde

Tag 16 ante partum

24 Stunden nach Tetrachlorkohlenstoffapplikation erkennt man am Tag 16 ante partum an den Leberschnitten der Muttertiere die typischen Veränderungen einer toxischen Leberschädigung. Im Vergleich zu den Kontrollschnitten treten an den behandelten Leberproben relativ gleichmäßig über den ganzen Lobulus verteilte klein- bis großtropfige Vakuolen im Cytoplasma der Hepatocyten auf. Vereinzelt neigen diese Vakuolen zum Konfluieren. Auch das Cytoplasma zeigt neben Vakuolenbildung weitere Besonderheiten. So erscheinen Bezirke von Leberzellen, die bei homogener Dichte ihres Cytoplasmas sich intensiver anfärben lassen, scharf getrennt von solchen Hepatocyten, die bei geringerer Anfärbbarkeit schollige Strukturen im Cytoplasma aufweisen. Die Kerne der dunkleren Hepatocyten haben oft ein bizarres Aussehen mit Entrundung oder Elongation ihres Bildes. In den helleren Cytoplasmabereichen scheinen die Zellkerne größer zu sein als in den dunkleren.

Diese Veränderungen, wie an den Muttertieren beschrieben, sind an den Leberschnitten der Embryonen zu diesem Zeitpunkt im Lichtmikroskop nicht zu erkennen. Zellen mit scholligen Verdichtungen im Cytoplasma kommen bei den behandelten Tieren nur vereinzelt vor und nicht in scharf umschriebenen Bezirken wie bei den Muttertieren.

Die Hämatopoese scheint durch die Tetrachlorkohlenstoffgabe nicht beeinträchtigt zu sein.

Tag 17 ante partum

48 Stunden nach CCl_4-Intoxikation ergeben sich an den Leberschnitten der Muttertiere Befunde, die denen des Vortages weitgehend gleichen. Auffällig sind wieder die optisch leeren, zum Teil konfluierenden, Vakuolen im Cytoplasma der Hepatocyten. Auch finden sich zu diesem Zeitpunkt schollige Verdichtungen im Cytoplasma, die aber auch auf den Kontrollschnitten beobachtet werden. Darüberhinaus lassen sich in einigen Zellverbänden mit ihren wabigen Strukturen die Zellkerne nur schlecht darstellen oder sind bereits verdämmert. Die Zellgrenzen derartiger Hepatocyten sind nur sehr schwer erkennbar und scheinen aufgehoben zu sein.

An Hand der lichtmikroskopischen Betrachtung der Leberproben der Embryonen läßt sich eine Veränderung der Hepatocyten nicht feststellen. Außer einigen sich unscharf darstellenden Zellen der behandelten Lebern von Tag 15 und 16 gleichen diese Proben denen der Kontrollembryonen.

Auch scheint zu dieser Zeit Tetrachlorkohlenstoff keinen Einfluß auf die hepatolienale Hämatopoese zu haben.

Tag 18 ante partum

Drei Tage nach peroraler Tetrachlorkohlenstoffgabe

zeigen die Leberparenchymzellen der Muttertiere die gleichen Veränderungen, wie sie schon am Tag 17 ante partum beschrieben wurden. In der Übersichtsvergrößerung fallen sofort die leeren kleintropfigen, zum Teil konfluierenden Vakuolen im Cytoplasma der Leberzellen auf. Neben den Vakuolen scheint der Zelleib mit dichten Körperchen angefüllt zu sein, so daß das Cytoplasma eine wabige Struktur erhält. Die Kerne dieser Zellen, die alle ungefähr die gleiche Größe besitzen, sind aufgehellt und weniger intensiv angefärbt. Manchmal erscheinen sie auch verkleinert. Die Zellgrenzen der durch CCl_4 geschädigten Hepatocyten sind unscharf konturiert.

Weniger auffällig zeigen sich die Leberproben der Embryonen zu diesem Zeitpunkt. Veränderungen im Sinne einer Schädigung sind bei lichtmikroskopischer Betrachtung nicht sicher zu erkennen. Die Zellen der fötalen Lebern haben auch bei den behandelten Tieren alle die gleiche Größe. Ihr Cytoplasma zeigt bei homogener Struktur manchmal eine verminderte Farbintensität, wie man an den Leberproben der behandelten Gruppe 2 sehen kann. Die Hepatocyten der Tiere, deren Mütter am 17. Gestationstag mit Tetrachlorkohlenstoff behandelt wurden, zeigen im Cytoplasma optisch dichtere, sich dunkler anfärbende Strukturen, die sich zum einen um die Kernmembran, zum anderen von innen an die Außenmembran der Zelle anlagern. Dadurch scheint die Kern- und Zellmembran stärker konturiert.

Tag 0 post partum

Am Tag der Geburt bieten die Zellen der Lebern aus

den Kontroll- und behandelten Gruppen ein relativ einheitliches Bild. Alle Leberparenchymzellen weisen annähernd die gleiche Größe auf und sind scharf voneinander abgrenzbar. Ihr Cytoplasma ist homogen und zeigt überall die gleiche Dichte. Einzelne Hepatocyten bei den behandelten Tieren jedoch stellen sich im Vergleich zu den Kontrollen unschärfer dar. Ihre Kerne sind zum Teil schwer erkennbar, unscharf gegen das Cytoplasma der Leberzelle abgrenzbar und scheinen manchmal verkleinert. Vakuolen fehlen zu diesem Zeitpunkt bei allen mit CCl_4 behandelten Tieren. Auffällig ist auch auf der Übersichtsvergrößerung, daß sich nur an den Leberschnitten der behandelten Tiere Parenchymzellen finden, die sich im Verhältnis zu der Masse der übrigen Hepatocyten deutlich dunkler anfärben lassen.

Tag 1 post partum

Die Zellen der Tiere, deren Mütter am 16. Schwangerschaftstag mit CCl_4 behandelt wurden, unterscheiden sich nicht von denen der Kontrollschnitte. Bei beiden treten Hepatocyten mit gleichmäßiger Cytoplasmadichte auf. Im Lobulus finden sich vereinzelt Zellen mit schwächerer Anfärbbarkeit. Die schon vorher beschriebenen cytoplasmatischen Verdichtungen einzelner Zellen erscheinen bevorzugt bei den Tieren aus den Gruppen 3 und 4. Die Größe der auch hier auftretenden Vakuolen reicht von der eines Zellkerns bis zu der eines Nucleolus.

Tag 3 post partum

Im Vergleich mit den Kontrollschnitten weisen die

Zellen der behandelten Tiere undeutliche Zellgrenzen auf. Ihr Cytoplasma enthält genau begrenzte Einschlüsse, die der Größe eines Nucleolus entsprechen. Außerdem zeigt sich die Kern-Plasma-Relation zu Gunsten des Kernes verschoben. Bei der Kontrollgruppe sowie bei den behandelten Tieten aus den Gruppen 2 und 4 treten keine Vakuolen auf, während die Leberproben der behandelten Tiere der Gruppe 3 regelrecht übersät sind mit klein- bis mitteltropfigen Vakuolen. Die Hämatopoese der Tiere aus den behandelten Gruppen entspricht zumindest zahlenmäßig der aus der Kontrollgruppe.

Tag 6 post partum

Das Bild der Leberschnitte der Tiere, deren Mütter am 16. Gestationstag Tetrachlorkohlenstoff erhielten, wird geprägt von kleintropfigen, optisch leeren Vakuolen im Cytoplasma der Hepatocyten. Hierbei ist ebenso die Neigung der Vakuolen zum Konfluieren deutlich nachweisbar. Das Cytoplasma der Leberzellen erscheint homogen von einheitlicher Dichte. Abgesehen von den Zellkernen, die nur undeutlich zu erkennen oder zum Teil schon zerfallen sind, ist auch eine klare Unterscheidung der einzelnen Hepatocyten nur schwer möglich. Die Zellgrenzen machen einen aufgelösten Eindruck. Im Gegensatz zu den eben geschilderten Befunden zeigen die Kontrollen, bei denen sich jedoch nur in einigen Leberzellen Vakuolen nachweisen lassen, und die Leberproben der behandelten Gruppen 3 und 4 klar voneinander abgrenzbare Leberzellen mit deutlichen Zellgrenzen. Im Cytoplasma der Hepatocyten der Tiere aus der Gruppe 4 liegen um die zum Teil vergrößert erscheinenden Kerne schollige Verdichtungen auf.

Die Hämatopoese ist zu diesem Zeitpunkt deutlich vermindert.

Tag 10 post partum

Die bisher beschriebenen Befunde lassen sich auch an den Schnitten am Tag 10 post partum bestätigen. Besonders die Cytoplasmaverklumpungen und die unterschiedliche Farbintensität einzelner Zellverbände beherrschen das Bild der Leberschnitte von den Tieren aus der Gruppe 2. Daneben lassen die beiden übrigen behandelten Gruppen wieder vereinzelt auftretende Vakuolen von mittlerer Größe erkennen. Allmählich wird auch die Blutbildung in der Leber eingestellt, so daß Zellen der Hämatopoese nur noch spärlich zu finden sind.

Tag 14 post partum

Auf Kontrollschnitten und behandelten Leberproben relativ einheitliches Aussehen. Wie auf den Schnitten von den vorhergehenden Tagen treten auch am Tag 14 post partum wieder unterschiedlich gefärbte Zellen auf. Einzelne dunklere Zellen heben sich scharf begrenzt von der Masse der übrigen Hepatocyten ab, deren Cytoplasma auch hier von zahlreichen dichten Körperchen und zum Teil mit kleinsten Vakuolen angefüllt sind.

Tag 19 post partum

Zu diesem Zeitpunkt ist ein Unterschied zwischen den Kontrollschnitten und den behandelten Leberproben nicht erkennbar. Wieder treten helle und dunkle Parenchymzellen nebeneinander auf. Das

Cytoplasma der Hepatocyten enthält schollige Strukturen, die bevorzugt in der Peripherie der Zelle lokalisiert sind, so daß der Zellkern oft von einem hellen Hof umgeben ist.

Tag 24 post partum

Neben den oben beschriebenen Befunden an den Parenchymzellen der Lebern, die auch am Tag 24 post partum bei den Kontrollschnitten sowie an den mit CCl_4 behandelten Lebern zu erkennen sind, fällt besonders bei den Proben der Gruppen 3 und 4 eine Dissoziation der Leberzellbalken. Einzelne Leberzellen sind aus dem Verband herausgelöst und erscheinen als Einzelelemente mit scharfen Grenzen. Häufig sind die Zellen geschrumpft und ihre Zellkerne verkleinert oder schlecht angefärbt.

Tag 31 post partum

Die am Tag 24 post partum beschriebenen Veränderungen finden sich auch auf den Leberschnitten der behandelten Tiere am Tag 31 post partum. Besonders die Proben der Tiere aus der Gruppe 2 zeigen eindrucksvolle Abweichungen vom Kontrollbild. Hier werden Bezirke von hellen Parenchyminseln, deren Cytoplasma die schon oben oft beschriebenen dichten Verklumpungen aufweisen, durchschnitten von sich dunkler darstellenden Zellen. Diese dunklen Zellen treten nicht in der für Leberzellen typischen Form auf, sondern sind in ihrer Größe wesentlich kleiner, dünner und erscheinen an beiden Zellenden spindelförmig ausgezogen. Auch macht ihr Cytoplasma einen dichteren Eindruck als das der übrigen Hepatocyten. Ihre Kerne sind rund

oder ausgezogen und häufig kleiner als die der Leberzellen. Auf den Bildern der behandelten Tiere aus den übrigen Gruppen sind die eben geschilderten Augenfälligkeiten nicht so deutlich zu erkennen.

4. Elektronenmikroskopische Befunde

a) Elektronenmikroskopisches Bild der maternen Leberschäden

Maus CCl_4

Die Leberzellen dieser Behandlungsgruppe sind auf dem Übersichtsbild durch die massive Einlagerung von Fett gekennzeichnet. In einer Schnittebene durch eine Zelle lassen sich bis zu 40 solcher Lipidinklusionen darstellen. Sie sind zumeist glatt begrenzt und weisen häufig ein helles Zentrum auf. Andere haben den typisch homogenen Inhalt mit vereinzelten granulären Einlagerungen. Die zentralen Aufhellungen müssen auf Herauslösung während der Präparation (Acetonreihe) zurückgeführt werden.

Das ER läßt die Parallelanordnung der endoplasmatischen Membranen vermissen. Die Membranen verlaufen isoliert zwischen den anderen Zellorganellen. Auch in gut erhaltenen Hepatocyten ist eine Fragmentation eingetreten. Häufig findet sich eine starke Schwellung dieser Hohlräume. Die von Kupffer-Zellen sind geringfügig vermehrt und etwas mit Fett beladen. In manchen Zellen, die stärker geschädigt sind, ist eine deutliche Mitochondrienschwellung sichtbar. Einzelne Zellen, die nekrotisch werden, kommen vor. Sie sind durch pyknotische Kerne, Mitochondrienschwellung und Zerfall des ER gekennzeichnet.

b) Elektronenmikroskopisches Bild der Leberentwicklung

Die Lebern der Mäuseembryonen zeigen bereits am Tag 16 in der frühesten Untersuchungsphase unseres Materials ein hochdifferenziertes Bild: es lassen sich

alle auch später zu beobachtenden Zellorganellen darstellen. Glykogenareale und parallelgepackte Membranpakete des rauhen ER treten bereits auf. Eine Ausnahme bildet das glatte ER, das erst zum Geburtstermin in geringer Menge nachweisbar wird. An den Sinusoiden lassen sich noch einige Reifungsstadien ablesen. Man findet sowohl ausdifferenzierte Sinusoide als auch Gefäßproliferationen, die sich durch ein kleines Lumen, ein noch dickeres Endothel mit höherem Organellengehalt und das Fehlen von Poren und Lücken auszeichnen. Phagocytierende Kupffer-Zellen mit zahlreichen eisenhaltigen Einschlüssen kommen bereits vor. Für nähere Einzelheiten der praenatalen Lebermorphologie sei auf die systematischen Untersuchungen von CHEDID und NAIR (1974) verwiesen.

In der folgenden Beschreibung soll nur auf die Befunde hingewiesen werden, die sich gegenüber dem Normalbild nach Behandlung mit Tetrachlorkohlenstoff verändern.

Nach Applikation des Trägerstoffs allein, ohne Zusatz von Tetrachlorkohlenstoff, treten bereits praenatal Fetteinschlüsse auf, die auf die Fettbelastung der Mutter zurückgeführt werden können. Diese Fetteinschlüsse sind morphologisch mit denen vergleichbar, die bei den behandelten Tieren auftreten. Ihre feinere Morphologie wird bei den Befunden dieser Gruppe abgehandelt.

Tag 16 ante partum

24 Stunden nach Applikation der Substanz am Tag 15 post partum lassen sich gegenüber dem Normalbild

der unbehandelten Kontrollen folgende Veränderungen elektronenmikroskopisch erfassen: auffällig ist das Auftreten von Fetteinschlüssen in Leberzellen. Diese Einschlüsse können bis zu 3 µ groß werden und in einer Schnittebene einzeln, doppelt oder sogar in Gruppen vorkommen. Ihr Inhalt stellt sich homogen elektronendicht dar. Eine begrenzende Membran ist nicht mit Sicherheit nachzuweisen. Die Form dieser Lipideinschlüsse ist charakterisiert durch eine bizarre Oberflächenkontur. Tiefe Einbuchtungen und spitzwinklige Ausziehungen geben diesen Strukturen ein sehr polymorphes Aussehen. Zwei Sonderbefunde sollen an dieser Stelle noch erwähnt werden: einmal konnten wir Fetteinschlüsse, die den eben besprochenen Strukturen entsprechen, auch im Kern der Leberzelle nachweisen. Eine genügend hohe Vergrößerung macht deutlich, daß diese nucleären Lipidtropfen nicht durch Invagination der Kernmembran oder entsprechenden Anschnittwinkel entstanden sind, sondern als frei im Cytoplasma lokalisiert betrachtet werden muß. Das zweite Beispiel betrifft Fett im Sinusendothel dieser Lebern. Die Lipideinschlüsse sind hier, entsprechend der geringeren Breite der Endothelzelle, kleiner und häufig noch vielgestaltiger in ihrer Form.

Bei Betrachtung des übrigen Lebergewebes bei niedriger Vergrößerung fallen die mächtig erweiterten Gallenkapillaren auf. Diese interzellulären Röhrensysteme werden zu diesem Zeitpunkt bereits deutlich von spezialisierten Membrankontakten der zonulae occludentes abgegrenzt und weisen an ihrer inneren Oberfläche zahlreiche Microvilli auf. Sie entsprechen damit fast vollständig dem Bild der reifen Gallenkapillaren. In dem hier besprochenen Material

(24 Stunden nach Applikation von Tetrachlorkohlenstoff am Tag 15) können diese Röhren einen Durchmesser von 6 µm erreichen. Die übrigen Zellbestandteile und Zellorganellen zeigen keine auffälligen Abweichungen vom Normalbild. Besonders das rauhe ER stellt sich in Form annähernd parallelgepackter langgestreckter Hohlraumsysteme dar.

Im Simusbereich finden sich neben den oben erwähnten Fetteinschlüssen im Endothel keine auffälligen Veränderungen.

Tag 17 ante partum

24 Stunden nach Tetrachlorkohlenstoffgabe am Tag 16 hat sich das Bild nicht wesentlich verändert. Allerdings treten jetzt bereits einzelne Zellen auf, die nicht mehr die langgestreckten parallelgepackten Membransysteme des rauhen ER zeigen. Diese Hohlräume sind stellenweise fragmentiert zu etwa 0,1 - 0,3 µ großen Bruchstücken, die abgerundet, d.h. möglicherweise etwas gebläht erscheinen.

Die im vorigen Abschnitt beschriebenen Fetteinschlüsse lassen sich auch hier nachweisen.

Tag 18 ante partum

Die Histiotypie der Leberzelle ist auch zu diesem Zeitpunkt nicht gestört. Bei stärkerer Vergrößerung zeigt sich, daß auch jetzt Fetteinschlüsse in ihrer typischen bizarren Form und Erweiterung der Gallenkapillaren auftreten. Die Fragmentation des rauhen ER läßt sich im Vergleich mit den vorhergehenden Entwicklungsstadien in mehr Zellen

nachweisen. Noch auftretende parallelgepackte Membranstapel sind häufig weniger lang und breit. Häufig sieht man eine Umscheidung der Mitochondrien durch einzelne, längere Hohlräume des ER. Bei Betrachtung der elektronenmikroskopischen Bilder entsteht der Eindruck, daß größere Mitochondrienformen vorkommen. Zur Verifizierung dieses Verdachtes wurden deshalb morphometrische Untersuchungen durchgeführt (siehe Abschnitt Material und Methode). Zusätzlich finden sich einige bizarre Mitochondrienformen. Als Beispiel sei auf das Bild 13 verwiesen. Hier entsteht der Eindruck von Mitochondrieninklusionen. Diese Strukturen können jedoch auch entstehen, wenn zufällig Einstülpungen von außen in der Schnittebene quergetroffen sind. Im Sinusbereich lassen sich zwar auch noch die verschiedenen Entwicklungsphasen der Sinusoide erfassen. Es fällt jedoch auf, daß die aufgrund ihres weiten Lumens und des dünnen auskleidenden Endothels als annähernd reif zu bezeichnenden Gefäße keine endothelialen Lücken oder Poren aufweisen. Es handelt sich also um eine kontinuierliche Endothelauskleidung, wobei an den Kontaktstellen der Endothelien zonulae occludentes oder close contacts auftreten. Vereinzelt konnten in diesem Material längliche, ovale oder bipolare Zellen nachgewiesen werden, die zahlreiche, teilweise erweiterte Hohlräume des rauhen ER enthalten. Sie entsprechen damit in ihrer morphologischen Erscheinung Fibroblasten. Obwohl sie in den Kontrollgruppen nicht gefunden werden konnten, lassen sich ihrer geringen Zahl wegen keine eindeutigen statistischen Schlüsse ziehen.

Tag 0 post partum

In dieser Gruppe (24 Stunden nach Verabreichung von

Tetrachlorkohlenstoff am Tag 18) sind alle die im vorigen Abschnitt beschriebenen Veränderungen in deutlicher Ausprägung zu erfassen. Die Beladung mit Fett ist aber eindeutig stärker. In einer Schnittebene können pro Zelle bis zu zehn Fetteinschlüsse beobachtet werden, deren Größe zwischen 0,3 und 5 µ schwankt.

Die Fragmentation des rauhen ER ist in vielen Zellen so deutlich, daß diese Fragmente gleichmäßig im gesamten Cytoplasmagebiet verteilt sind. Ganz auffällig sind Zellen, die sich in der Nekrose befinden. Ihre Kerne zeigen deutliche Pyknosezeichen, die Fragmente des rauhen ER sind gebläht. Die Gesamtzelle dagegen zeigt eine Schrumpfungsneigung. Zusätzlich können im Simusbereich vermehrt phagocytierende Zellen dargestellt werden. Sie zeichnen sich durch eine große Zahl polymorpher Einschlüsse aus und füllen häufig das Lumen der Sinus vollständig aus. Dabei beteiligen sich auch die Endothelzellen, die stellenweise geschwollen sind. Auch sind wieder einzelne fibroblasten-ähnliche Zellen direkt im Leberzellverband nachweisbar.

Die Lebern der am Tag 16 bzw. 17 behandelten Neugeborenen entsprechen den morphologischen Verhältnissen der am Tag 18 gespritzten Gruppe. Als Veränderungen können hier aufgelistet werden:

a) Die Fetteinschlüsse. Ihre Zunahme muß aber, entsprechend den Befunden der Kontrollgruppe, der Trägersubstanz zugeordnet werden. Der Darm dieser neugeborenen Tiere ist zwar noch milchfrei, jedoch kann eine erste Nahrungsaufnahme nicht ausgeschlossen werden.

b) Fragmentierung des rauhen ER in der bereits beschriebenen Weise.

c) Das Auftreten mitochondrialer Großformen.

d) Deutliche Erweiterung der Gallenkapillaren. Wegen der Variabilität des Microvillibesatzes in ihrer Zahl und Struktur ist eine Beurteilung dieses Aspektes der Feinstruktur nicht sicher möglich.

e) Das vermehrte Auftreten von phagocytierenden Zellen im Sinusbereich mit einem teilweisen Verschluß des Lumens.

f) Das Auftreten von fibroblastenähnlichen Zellen auch in einiger Entfernung vom Sinus.

Kurz nach der Geburt lassen sich elektronenmikroskopisch auch Areale des glatten ER nachweisen. Ihre geringe Zahl und Ausprägung machen aber die Erfassung von Unterschieden zwischen den einzelnen Gruppen unmöglich. Auffällig ist das Fehlen von Poren und Lücken auch in den Sinusbereichen, die ein ausgereiftes morphologisches Bild bieten.

Tag 1 post partum

Alle jetzt noch überlebenden Gruppen - behandelt an den Gestationstagen 16, 17 und 18 - zeigen ein einheitliches Bild und sollen deshalb zusammenfassend abgehandelt werden. Die meisten der in den vorhergehenden Abschnitten beschriebenen Befunde lassen

sich auch hier noch beobachten. Auffällig ist nach wie vor die kontinuierliche Endothelauskleidung der Sinusoide, die Vergrößerung derartiger Endothelzellen und das Vorkommen vieler phagocytierender Zellen in diesem Bereich. Der Durchmesser der Gallenkapillaren hat etwas abgenommen.

An den Leberzellen selbst sind gegenüber den Kontrollen keine auffälligen Veränderungen mehr festzustellen. Nach wie vor treten noch reichlich Fetteinschlüsse auf, die auf die Milchnahrung bezogen werden müssen. Auffälliger ist das Gebiet der Sinusoide. Hier finden wir vereinzelt Zelltrümmer. Sie bestehen aus stark elektronendichtem Material, das bei höherer Vergrößerung feingranuläre- und Membranstrukturen enthält. Es liegt z.T. extrazellulär; jedoch können solche Strukturen auch in phagocytierenden Zellen des Sinusbereiches nachgewiesen werden. Solche Zellen mauern häufig das Sinuslumen aus. Man kann alle Übergangsformen von mehr histocytären Zellelementen, die nur gering Organellen und noch keine Einschlüsse aufweisen bis hin zu typischen phagocytären Zellen beobachten. Häufig ist die Endothelauskleidung sehr dick. An diesen Stellen enthalten die Endothelzellen zahlreiche Zellorganellen, u.a. auch Hohlräume des rauhen ER. Man könnte hier eine Entwicklungsreihe von der typischen Endothelzelle bis zur ausgeprägten Freßzelle konstruieren.

An vielen Stellen ist im Gegensatz zu den Kontrollen das Sinuslumen kollabiert.

Tag 6 + 10

Am Tag 6 und 10 haben sich die Verhältnisse noch

nicht wesentlich verändert. Auch hier betreffen die Veränderungen den Sinusbereich: Ausmauerung der Sinuslumina durch phagocytierende Zellen und deren Vorstufen, Verdickung der Endothelzellen und das vermehrte Auftreten von fibroblasten-ähnlichen Zellen.

Tag 14 pp + 19 pp

An diesen Tagen verändert sich das Bild nicht. Auffällig sind aber zu diesem Zeitpunkt starke Dichtenunterschiede bei den Leberzellen, die besonders auf Übersichtsvergrößerungen deutlich werden. Bei den stärkeren Vergrößerungen zeigen diese unterschiedlich dichten Zellen keine prinzipiellen Unterschiede im Grundaufbau des Cytoplasmas. Die Organellen sind jedoch dichter aneinandergerückt, d.h. die Menge des unstrukturierten Hyaloplasmas hat stark abgenommen.

Tag 24 pp

Am Tag 24 sind die Veränderungen im Sinusgebiet immer noch ausgeprägt. Auffällig ist jetzt das vermehrte Auftreten von langgestreckten fibrocytenähnlichen Zellen, die bevorzugt in Sinusnähe liegen, jedoch auch zwischen den Leberzellen angetroffen werden können.

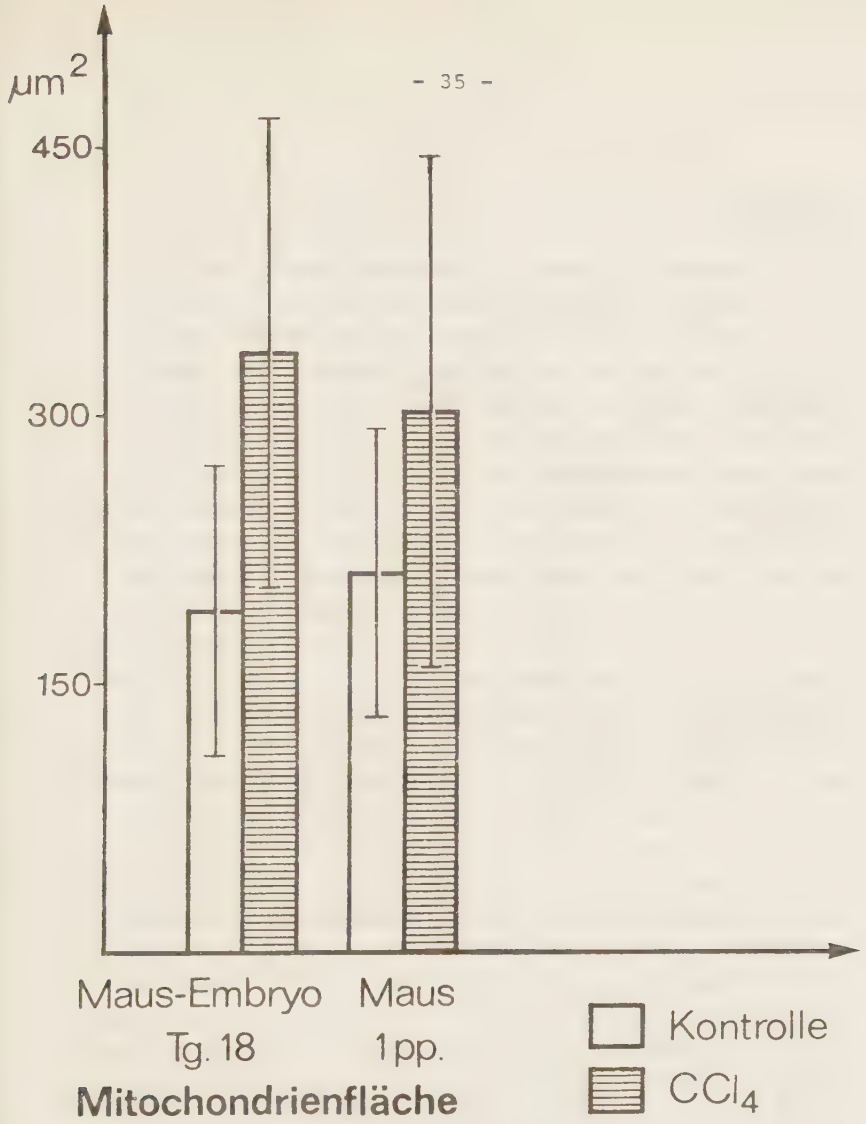
Diese Zellen enthalten rauhes ER und passen sich in ihrer langgestreckten Form den Leberzellgrenzen an. Zusätzlich fallen Zellen auf, die sich zwischen Sinusnusendothel und Leberzelle schieben, d.h. im Disse'schen Raum liegen. Sie enthalten reichlich rauhes ER und können als Fibroblasten bezeichnet werden. In ihrer Umgebung finden sich häufig auch kleine Bündel kollagener Fasern. Das Sinusendothel ist an diesen Stellen kontinuierlich mit einer Basalmembran unterlegt.

5. Morphometrische Befunde

Mitochondrienfläche (Mittelwert ± Standardabweichung)

V-Gruppe	Kontrolle Fläche μm^2	n	1,0 mg CCl_4/kg Fläche μm^2	n	P (Kontr./CCl_4)
ME Tg. 18	191,59 ± 111,37	400	336,48 ± 206,09	423	< 0,05
M 1 pp	212,61 ± 131,95	498	303,03 ± 159,16	472	< 0,05

V-Gruppe	Versuchsgruppe
ME	Mäuse-Embryo
M	Maus
n	Anzahl der Mitochondrien



Der Effekt von CCl_4, gemessen an der Schwellung der Mitochondrien, ist sowohl bei ME des 18. intrauterinen Embryonaltages als auch bei neugeborenen Mäusen (d 1pp) nach dem t-Test (STUDENT) mit $P < 0,05$ statistisch signifikant. Die Flächen der Mitochondrien nach CCl_4 nehmen jeweils von 100 % auf 175,63 % am Tag 18 post conzeptionem bzw. von 100 % auf 142,53 % am Tag 1 post partum zu.

6. DISKUSSION

Wie im Abschnitt Material und Methode ausführlich dargestellt, verabreichten wir trächtigen Mäusen am Ende ihrer Schwangerschaft jeweils nur eine einzige Dosis von 1,0 ml CCl_4/kg Körpergewicht in Olivenöl. Durch diesen Versuchsaufbau erreichten wir bei den Tieren eine akute CCl_4-Intoxikation, die aufgrund der Eigenschaft des Stoffes morphologische Veränderungen an den Lebern der Tiere setzt. Bei den maternen Leberproben fallen besonders die Fettanreicherungen im Bereich des Zytoplasmas auf. Die gegenüber den Kontrollen quantitativ vermehrten Lipidinklusionen können einmal als fettige Dystrophie infolge eingeschränkter Lipoproteinproduktion aufgefaßt werden. Daneben ist aber zu bedenken, daß wir in unseren Versuchen reines Olivenöl als Trägersubstanz verwendet haben. Das dadurch bedingte Überangebot an Fettsubstanzen und die damit verbundene vermehrte Fettaufnahme können als formale Genese der maternen Leberzellverfettung nicht ausgeschlossen werden, zumal bei elektronenmikroskopischer Betrachtung des Materials die Herkunft der Lipidinklusionen in den Hepatocyten nicht ersichtlich ist. An allen Membransystemen der behandelten Leberzellen finden sich deutliche Veränderungen. So erfährt das rauhe ER deutliche morphologische Alterationen im Sinne von Fragmentation der sonst weitgehend parallel verlaufenden endoplasmatischen Membranen. Die Zisternen dieses Hohlraumsystems erscheint dilatiert.Insoweit stimmen unsere Befunde mit den Ergebnissen anderer Autoren (Regnolds, 1963;Smuckler, 1966) überein. Den von SHINOZUKA 1971 beschriebenen totalen Kollaps der Zisternenzwischenräume mit partieller Verschmelzung zweier benachbarter Membranen läßt sich anhand unseres Materials nicht bestätigen.

Die Schädigung im Bereich des rauhen ER wird als direkte Einwirkung von Tetrachlorkohlenstoff bzw. seiner Radikale auf die zellulären Membransysteme diskutiert. Der Stoff wird erst in der Leberzelle durch das mikrosomale Enzymsystem der mischfunktionellen Oxydasen in seine toxische Form umgewandelt. Während der Reduktion des CCl_4/Cytochrom P - 450 - Komplexes entstehen unter Mitwirkung der Cytochrom P - 450 Reduktase die Radikale CCl_3 und Cl, die nun im Rahmen der Lipidoxydation zur Zerstörung der Membranen des rauhen ER führen, was sich im Elektronenmikroskop als Fragmentation, Vesikulation und als durch Permeabilitätserhöhung bedingten Dilatation der Zisternenzwischenräume dokumentiert.

Im weiteren Verlauf der Schädigung ist deutlich eine Schwellung und damit eine Abrundung sowie Vergrößerung bei den maternen Leberproben festzustellen. Ihre begrenzenden Membranen erscheinen unversehrt. Bizarre Mitochondrienformen, wie HÜBNER sie 1965 beschrieben hat, sind in unserem Material nicht zu erkennen.

Bei der Mitochondrienschädigung liegt der gleiche Wirkungsmechanismus des Tetrachlorkohlenstoffs zugrunde, der auch zur Zerstörung des rauhen endoplasmatischen Retikulums führte. Die Aktivierung des Stoffes durch Radikalbildung nach Anlagerung an das rauhe ER und nachfolgende Lipidperoxydation führt grundsätzlich zur Schädigung aller Membransysteme der Zelle. Diese Alteration der Membranen geht zwangsläufig mit einer Steigerung der Permeabilität einher, so daß zusammen mit der Hemmung der oxydativen Phosphorgliederung sowohl Schwellung als auch Vergrößerung der Mitochondrien durch Wassereinstrom bedingt sind.

Bei den Embryonen der behandelten Muttertiere finden wir in Übereinstimmung mit den Angaben von SUNDARESON (1942) oder TSIRELNIKOW und DOBOROVOLSKAYA (1973) während der intrauterinen Entwicklung eine klare Zeitabhängigkeit zwischen Behandlungstag und dem Auftreten von morphologisch faßbaren Leberveränderungen.

Am Tag 16, d. h. 24 Stunden nach CCl_4-Applikation dominieren die Fetteinschlüsse im Zytoplasma, Nucleus und Sinusendothel der Hepatozyten. Da wir reines Olivenöl als Trägersubstanz für CCl_4 benutzt haben, bleibt die Herkunft der Lipidinklusionen in den embryonalen Leberzellen unklar, zumal sich bei elektronenmikroskopischer Betrachtung keine Schlüsse nach der Herkunft dieser Fettbeladung ziehen lassen. Als formale Genese der beobachteten Verfettung kommt, durch unseren Versuchsaufbau bedingt, einmal die Überflutung des mütterlichen Organismus mit der von uns verwandten Trägersubstanz in Betracht. Eine Fetteinlagerung in der Leber des Embryos als Folge dieses Zustandes würde einmal den Übertritt von Fettmicellen via Placenta in den embryonalen Kreislauf voraussetzen oder aber eine Neusynthese von Fetten aus den Bausteinen nach Permeation der embryonalen Barrieren in der Placenta oder Leber. Es muß aber auch eine Störung der Fettmobilisation aus der noch unreifen Leberzelle oder des intrazellulären Fettabbaus diskutiert werden, ähnlich wir im erwachsenen Organismus. Die im Elektronenmikroskop beobachteten regelrecht gestalteten Zellorganellen, besonders die Unversehrtheit des rauhen ER lassen eine di-

rekte CCl_4-Wirkung zumindest in diesem Entwicklungsstadium der embryonalen Leberzellen als kausalen Faktor für die fettige Dystrophie (HOLZNER, 1974) unwahrscheinlich erscheinen. Erst mit fortschreitender intrauteriner Entwicklung werden die Auswirkungen des Toxins CCl_4 auf die embryonalen Lebern deutlicher. So erscheinen erst bei den Lebern der Embryonen, deren Mütter am 17. bzw. am 18. Gestationstag mit CCl_4 behandelt wurden, neben den Lipideinschlüssen im Cytoplasma der Leberzellen zusätzlich noch eindrucksvolle Veränderungen an den Zellorganellen: das rauhe ER zeigt sich bei den behandelten embryonalen Lebern der beiden letzten Schwangerschaftstage nicht mehr als langgestreckte parallel gepackte Membransysteme, sondern ist zumindest stellenweise fragmentiert. Dieser Befund spricht für eine direkte CCl_4-Wirkung.

Diese Zeitabhängigkeit zwischen Behandlungstag und dem Auftreten von Membranschäden am ER kann durch die Tatsache erklärt werden, daß die embryonale Leber aufgrund ihrer Unreife noch nicht in der Lage ist, genügend CCl_4 umsetzende Enzyme, z.B. vom Typ der mischfunktionellen Oxydasen zu bilden (NEUBERT, persönliche Mitteilung). Unklar bleibt jedoch, ob CCl_4 in den embryonalen Lebern durch den Typ I der mischfunktionellen Oxydasen, dem Cytochrom P450, oder durch Typ II, dem Cytochrom P 448, umgesetzt wird, die beide ante partum nur in ganz geringer Menge entsprechend der Unreife der embryonalen Lebern vorliegen und erst post partum in größerer Menge vorhanden sind. Einiges spricht allerdings dafür, daß bei embryonalen Lebern das Cytochrom P 448 das CCl_4 umsetzende Enzym ist. Durch Benzpyren läßt sich nämlich die mischfunktionelle Oxydase vom Typ II soweit induzieren, daß schon am 16. bis 17. Schwangerschaftstag nach CCl_4-Gabe eindrucksvolle Ver-

änderungen an den Hepatocyten entstehen.

Die Zeitabhängigkeit der Leberschädigung läßt sich auch an den im Elektronenmikroskop erkennbaren Alterationen an den Sinusoiden demonstrieren. An Hand unseres Materials fällt bei den am Tag 18 ante partum behandelten Lebern auf, daß die aufgrund ihres weiten Lumens und des dünn ausgekleideten Endothels als annähernd reif zu bezeichnenden Gefäße keine endothelialen Lücken oder Poren mehr aufweisen. Diese kontinuierlichen Endothelauskleidungen kommen auch bei der Behandlung mit anderen Substanzen vor (MERKER, unveröffentlichte Befunde, MERKER, 1977). Wahrscheinlich stellt der beschriebene Verschluß der Poren oder Lücken ein Schutzmechanismus für die Leberzellen vor dem Anfluten großer Mengen von Substanzen dar, die von der Leberzelle aufgenommen werden. Auch an den Mitochondrien im embryonalen Lebergewebe lassen sich unter diesem Aspekt Veränderungen nach CCl_4 erwarten. Zur Verifizierung der nicht primär deutlich erfassbaren Mitochondrienschwellung wurden von uns morphometrische Umfang- und Flächenmessungen von durch Abpausen isolierter Mitochondrien der Tage 18 ante partum und 1 post partum durchgeführt. An Hand der statistischen Auswertung nach dem T-Test (Student) nehmen die Flächen der Mitochondrien nach CCl_4 um ca. 75 % am Tag 18 post konzepticnem zu. Am Tag 1 post partum ist immer noch eine Vergrößerung der Mitochondrienflächen um 42 % feststellbar.

Die in den Mittelwerten der Meßdaten jeweils enthaltenen großen Standartabweichungen erklären sich zwanglos mit der in den Schnitten starken Variationen der Mitochondrienflächen. Diese dem Material anhaftende Problematik läßt sich auch durch eine Vervielfachung der Meßwerte kaum eindämmen. Gleichzeitig mit den

Flächenmessungen wurden am Quantimet 720 B die Umfänge der Mitochondrien automatisch registriert. Bei der Auswertung dieser Zahlen kann eine der Flächenveränderung analoge und in etwa gleicher Größenordnung vorhandene Wirkung von CCl_4 auf die Mitochondrienumfänge ermittelt werden. Dabei ist aber zu beachten, daß die signifikante Flächenzunahme weniger auf einer einfachen Schwellung mit Abrundung der Mitochondrien beruht. Vielmehr lassen sich elektronenmikroskopisch an den behandelten embryonalen Lebern mitochondriale Großformen und stark verzweigte Formen darstellen. Es könnte sich damit nicht nur um eine Schwellung, sondern auch um eine Vergrößerung über einen anderen Mechanismus handeln. Hier ist an eine sog. frustrane Vergrößerung der Mitochondrien ohne Schwellung, die bei Störungen der Mitochondrienneubildung beobachtet wurde, zu denken. Beispiel sei die Bildung von Riesenmitochondrien bei gestörter Synthese mitochondrialer Proteine und Nucleinsäuren und bei Mangel an essentiellen Fettsäuren erwähnt. Hier werden offenbar einige Mitochondrienbausteine in ungenügender Menge gebildet und damit eine geordnete Teilung dieser Organellen gestört. Das Verhalten der Lebern im weiteren Entwicklungsverlauf läßt sowohl auf die Existenz einer primären Schädigung als auch auf ihre Persitenz schließen. Post partum bleiben die Fetteinlagerungen in den Leberzellen sichtbar. Das rauhe ER erscheint fragmentiert. Es finden sich auch weiterhin mitochondriale Großformen und Ektasien von Gallenkapillaren. Besonders auffällig ist aber einmal das vermehrte Auftreten von phagocytierenden Zellen im Sinusbereich mit teilweisem Lumenverschluß und fibroblasten-ähnlichen Zellen auch in der näheren Umgebung vom Sinus. Ein Teil dieser Befunde können als mesenchymale Antwort infolge einer primären Parenchymschädigung gewertet werden. Solche Reaktion im Gefolge einer Leberzellschädigung sind allgemein aus der Pathologie bekannt und beschrieben worden (ZOLLINGER). Die Funktion der bei unserem Material

aufgetretenen Phagocyten ist jedoch aus dem Elektronenmikroskop nicht ersichtlich, zumal keine ausgeprägten Nekrosen beobachtet werden.

Auch lassen sich die Bedeutung der Dichtenunterschiede der Leberzellen in den letzten hier berücksichtigten Tagen nur recht schwer im Hinblick auf die Frage Schädigungszeichen oder nur funktionelle Unterschiede deuten. Zur Problematik dieser dunklerer Zellen, die nur in hoch differenzierten Geweben nicht dagegen bei pluripotenten Zellen beschrieben wurden, sei auf die Arbeit von KEYSERLINGK (1969) verwiesen. In Übereinstimmung mit ihren Beobachtungen läßt sich auch auf unseren elektronenmikroskopischen Bildern eine dichtere Zusammenlegung aller Zellorganellen im Cytoplasmaraum der dunkleren Leberzellen erkennen. Auch in anderen Geweben ist das Auftreten von hellen und dunklen Zellen bekannt. Aber die Bedeutung der Unterschiede ist hier ebenfalls umstritten.

7. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde der Einfluß von Tetrachlorkohlenstoff auf die embryonale Mäuseleber untersucht. Dazu erhielten trächtige Mäuse am 15., 16., 17. und 18. Gestationstag oral CCl_4 mit Olivenöl als Trägersubstanz. Die Lebern der Muttertiere zeigten die für dieses Toxin typischen Veränderungen, wie Fetteinlagerungen in die Leberzellen, Fragmentation oder Zerfall des rauhen ER mit starker Schwellung der Zisternen und Mitochondrienvergrößerung.

An den Lebern der Embryonen wurden die nach akuter CCl_4-Intoxikation auftretenden Veränderungen und danach das Regenerationsverhalten nach praenataler Schädigung sowie die dabei auftretende mesenchymale Reaktion verfolgt. Dabei wurde eine klare Zeitabhängigkeit zwischen Verabfolgung des Lebertoxins und morphologisch faßbaren Veränderungen erkennbar. Die Leberproben der Embryonen, deren Mütter am Tag 15 bzw. 16 mit CCl_4 behandelt wurden, zeigten außer einer deutlichen Fettbeladung der Hepatocyten und Sinusendothelien nur eine Dilatation der reif aussehenden Gallenkapillaren. Veränderungen im Bereich des rauhen ER fanden sich erst bei der Gruppe, die am Tag 17 bzw. 18 behandelt wurden. Neben der hierbei ebenfalls auftretenden Lipidinklusion fiel besonders die Fragmentation der sonst parallelgepackten Membranstapel des rauhen ER auf. Mitochondriale Riesenformen wurden beobachtet. Mit Hilfe der Morphometrie wurde am Quantimet 720 B die Flächen- und Umfangzunahme der Mitochondrien nach CCl_4-Applikation gemessen. Die Zunahme beider Parameter erwies sich als statistisch signifikant. Im weiteren Verlauf traten daneben vermehrt phagocytierende Zellen im Sinusbereich auf, so daß das Lumen teilweise verschlossen schien. Auch das Vorkommen von fibroblasten-ähnlichen Zellen auch in der näheren Umgebung der Sinusoide leg-

ten den Verdacht einer Persistenz der Noxe mit mesenchymaler Antwort nahe, was durch Vermehrung von Bindegewebe in diesem Gebiet belegt werden konnte.

8. Literaturverzeichnis

Adhami, H., Noack, W. Stoltenburg, G. und Schumacher, B.
Über die Anwendung der stereologischen Bildanalyse in der Medizin.
Z. mikrosk.-anat. Forsch., Leipzig 88, 660 - 664 (1974)

Adhami, H., Sawatzky, K.H. und Hornung, J.
Morphometric studies on the relationship between myelin sheath and axon area in the sciatic nerve of adult rats.
Anat. Anz. 140, 52 - 61 (1976)

Artizzu, M., Baccino, F.M. und Dianzani, M.U.
The action of carbon tetrachloride on mitochondria in vitro.
Biochem. Biophys. Acta 78, 1 - 11 (1963)

Artizzu, M. und Dianzani, M.U.
The changes in the mitochondria and lysosomes in the fatty livers of rats fed with carbon tetrachloride and their independence of ribonuclease activitation.
Biochem. Biophys. Acta 63, 453 - 464 (1962)

Baccino, F.M., Satta, G. und Mameli, L.
Distribution of CCl_4 among liver cell fractions.
Biochem. Biophys. Acta 90, 606 - 608 (1964)

Bangham, A.D. Rees, K.R. und Shotlander, V.
Penetration of lipid films by compounds preventing liver necrosis in rats.
Nature 193, 754 - 756 (1962)

Bartsokas, St.C.
Papadimitriou, D.G.
Papacharalampous, N.X.
Varonos, D.
The effect of mild hypothermia in CCl_4 toxic hepatitis.
Acta Hepato-Gastroenterol. 20, 272 - 278 (1973)

Bassi, M.
Electron microscopy of rat liver after carbon tetrachloride poisoning.
Exp. Cell Res. 20, 313 - 323 (1960)

Beneke, G.
und
Simon, H.
Neuartige histomorphologische und histochemische Befunde beim akuten Tetrachlorkohlenstoff-schaden der Rattenleber.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 45, 284 - 286 (1961)

Berg, W.
Über Fett- und Pigmenteinschlüsse in den Leberzellkernen des Menschen.
Zeitschr. f. mikr.-anat. Forsch. 38, 644 - 659 (1936)

Berger, E.R.
Two morphologically different mitochondrial populations in the rat hepatocyte as determined by quantitative three-dimensional electron microscopy.
J. Ultrastruc. Res. 45, 303 - 327 (1973)

Brabec, M.J.
Bradley, C.
und
Bernstein, I.A.
Studies on the antagonism by chloramphenicol of carbon tetra-chloride-induced damage: Examination of mitochondrial protein synthesis.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 38, 157 - 16[illegible] (1976)

Calvert, D.N.
und
Brody, T.M.
Role of the sympathetic nervous system in CCl_4 hepatotoxicity.
Amer. J. Physiol. 198, 699 - 676 (1960)

Castro, J.A.,
Diaz Gomez, M.I.
Ferreyra, E.C.
de Castro, C.R.
D'Acosta, N.
de Fenos, O.M.
Carbon tetrachloride effect on rat liver and adrenals related to their mixed function oxygenase content.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 47, 315 - 321 (1972)

Castro, J.A.
Diaz Gomez, M.I.
Ferreyra, E.C.
de Castro, C.R.
D'Acosta, N.
de Fenos, O.M.
References in the carbon tetrachloride-induced damage to components of the smooth and rough endoplasmic reticulum from rat liver.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 50, 337 - 343 (1973)

Castro, J.A.
Diaz Gomez, M.I.
de Castro, C.R.
de Fenos, O.M.
de Ferreyra, E.C.
D'Acosta, N.
Carbon tetrachloride induced polysome breakdown relative importance of lipid peroxidation and of binding to ribosomal components in the process.
Chem. Path. and Pharmacol. 10, 93 - 103 (1975)

Chedid, A.
und
Nair, V.
Ontogenesis of cytoplasmic organelles in rat hepatocytes and the effects of prenatal phenobarbital on endoplasmic retikulum development.
Dev. Biol. 39, 49 - 62 (1974)

Chedid, A.
und
Nair, V.
Ontogenetic changes in the ultrastructure of rat hepatocyte organells after prenatal x-irradiation.
Radiation Res. 62, 123 - 132 (1975)

David, H. Neuere Aspekte der normalen und pathologischen Feinstruktur der Leber. Hippokrates 16, 605 - 609 (1968)

David, H. Zum Verhalten von granuliertem endoplasmatischen Retikulum, Polysomen, und Ribosomen in der Leber nach Aktinomyzingabe. Verh. Anat. Ges. 129, 223 - 227 (1969)

David, H. Lunzenhauer, K. und Bartok, I. Die Wirkung langdauernder Eiweißmangeldiät und chronischer CCl_4-Intoxikation auf das submikroskopische Bild der Rattenleber. Zschr. inn. Med. 22, 993 - 999 (1962)

Dawkins, M.J.R. Carbon tetrachloride poisoning in the liver of the new-born rat. J. Path. Bact. 85, 189 - 196 (1963)

Dianzani, M.U., Baccino, F.M. Comporti, M. The direct effect of carbon tetrachloride on subcellular particles. Lab. Invest. 15, 149 - 156 (1966)

Dianzani, M.U. und Gravela, E. Inhibition of protein synthesis in carbon tetrachloride-induced liver injury. Pathogenesis and Mechanisms of Liver Cell Necrosis, MTP Press ltd. (1975)

Dobrovolskaya,S.G.: Tsirelnikov, N.I. und Yakobson, G.S. Morphohistochemical characteristics of the liver of pregnant rats under conditions of carbon tetrachloride administration. Bjull. eksper. biol. med., Moskva 75, 117 (1973)

Eder, M. und Gedigk, P. Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie. Springer Verlag, 1974

Gerhard, H.
Schultze, B.
und
Maurer, W.
Autoradiographische Untersuchung über die Proteinsynthesestörung in der Mäuseleber nach CCl_4-Intoxikation.
Virchow's Arch. Abt. B Zellpath. 6, 38 - 56 (1970)

Goldman, D.S.
Chaikoff, I.L.
Entenmann, C.
Dauben, W.G.
Site of formation of plasma phospholipids studied with C^{14}-labeled palmitic acid.
J. Biol. Chem. 184, 727 - 733 (1950)

Haba, K.
und
Seno, S.
An electronmicroscope study of liver cell in carbon tetrachloride intoxication, significance of "opaque area".
Acta Med. Okayama 15, 375 - 389 (1961)

Halbreich, A.
und
Mager, J.
Early effects of carbon tetrachloride on the synthesis of phospholipids in the rat liver and their possible induction.
Biochem. Biophys. Acta 187, 584 - 587 (1969)

Hardin, B.L.
Carbon tetrachloride poisoning - a review.
Ind. Med. Surg. 23, 93 - 105 (1954)

Heni, N.
und
Remmer, H.
Die Wirkung von Tetrachlorkohlenstoff auf endoplasmatische Enzyme der Rattenleber.
Arch. Toxicol. 28, 1 - 11 (1971)

Hirayama, C.
Morotomi, I.
und
Hiroshige, K.
Quantitative and metabolic changes of hepatic collagens in rats after carbon tetrachloride poisoning.
Biochem. J. 118, 229 - 232 (1970)

Hirayama, C.
Hiroshige, K.
Masya, T.
Hepatic collagenolytic activity in rats after carbon tetrachloride poisoning.
Biochem. J. 115, 843 - 847 (1969)

Hübner, G.
Ultrastrukturelle Leberveränderungen bei direkter Einwirkung von Tetrachlorkohlenstoff in vivo und in vitro.
Virchow's Arch. path. Anat. 339, 187 - 197 (1965)

Holzner, J.H.
Pathologie des Menschen.
Urban & Schwarzenberg, 1974

Keyserlingk, A.
Elektronenmikroskopisch helle und dunkle Zellen im exokrinen Pankreasgewebe der Ratte. - Inaug.-Diss. Berlin (1969)

Kimberg, D.V.
und
Loeb, J.N.
Effects of cortisone administration on rat liver mitochondria.
J. Cell Biol. 55, 635 - 643 (1972)

Kondos, A.C.
und
Mc Clymont, G.L.
Indirect anthelmintic action of carbon tetrachloride against Fasciola hepatica.
Nature 206, 846 - 847 (1965)

Leduc, E.H.
und
Wilson, J.W.
Injury to liver cells in carbon tetrachloride poisoning.
Arch. Path. 65, 147 - 157 (1958)

Litterst, C.L.
Farber, T.M.
und
van Loon, E.J.
Potentation of CCl_4-induced hepatotoxicity in the dog by chronic exposure to phenobarbital.
Tox. Appl. Pharmacol. 25, 354 - 362 (1973)

Löwe, H.
und
Jung, F.
Studien an isolierten Leberschnitten zur funktionellen Bedeutung ribosomenbesetzter Membranen der Zelle.
Acta biol. med. german. 15, 302 - 316 (1965)

Lombardi, B.
Considerations on the pathogenesis of fatty liver.
Lab. Invest. 15, 1 - 15 (1966)

Madeira, F.
Quina, M.
Sanguino, J.C.
Quantitative hepatic cytology.
Digestrion, 7, 165 - 173 (1972)

Magee, P.N.
Toxic liver necrosis.
Lab. Invest. 15, 111 - 131 (1966)

Mc Closkey, J.F.
und
Mc Gehee, E.H.
Effect of subcutaneous and intraoral administration of carbon tetrachloride on the liver of the rat.
Arch. path. , 200 - 204

Mc Intosh. D.A.D.
und
Topham, J.C.
A comparison of mouse and rat liver enzymes and their response to treatment with various compounds.
Biochem. Pharmacol. 21, 1025 - 1029 (1972)

Mc Lean, E.
Mc Lean, A.E.
und
Sutton, P.M.
Instant cirrhosis: an improved method for producing cirrhosis of the liver in rats by simultaneous administration of carbon tetrachloride and phenobarbitone.
Br. J. exp. Path. 50, 502 - 506 (1969)

Mego, J.L.
und
Cain, J.A.
The effect of carbon tetrachloride on lysosome function in kidneys and livers of mice.
Biochem. Biophys. Acta 297, 343 - 345 (1973)

Mintz, H.
Yawn, D.H.
und
Safer, B.
Morphological and biochemical studies on isolated mitochondria from fetal, neonatal and adult liver and from neoplastic tissues.
J. Cell Biol. 34, 513 - 517 (1967)

Mölbert, E.
Das elektronenmikroskopische Bild der Leberparenchymzelle nach oxidationshemmenden Cytotoxinen.

Mölbert, E.
und
Guerritore, D.
Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Leberparenchym bei akuter Hypoxie.
Beitr. path. Anat. u. allg. Path. 117, 32 - 49 (1956)

Nayak, N.C.
Chopra, P.
und
Ramalingaswami, V.
The role of liver cell endoplasmic reticulum and microsomal enzymes in carbon tetrachloride toxicity: an in vivo study.
Life Sciences 9, 1431 - 1439 (1970)

Paquet, K.J.
und
Kamphausen, U.
The carbon tetrachloride-hepatotoxicity as a model of liver damage.
Acta Hepato-Gastroenterol. 22, 84 - 88 (1975)

Pohl, W.
Die Substruktur der Leberzelle unter hormonalen und toxischen Reizen.
Z. f. d. ges. Inn. Med. 17, 199 - 204 (1962)

Recknagel, R.O. und Ghoshal, A.K. Lipidperoxidation as a vector in carbon tetrachloride hepatotoxicity. Lab. Invest. 15, 132 - 148 (1966)

Recknagel, R.O. und Lambardi, B. Studies of biochemical changes in subcellular particles of rat liver and their relationship to a new hypothesis regarding the pathogenesis of carbon tetrachloride fat accumulation. J. Biol. Chem. 236, 564 - 569 (1961(

Reynolds, E.S. Liver parenchymal cell injury: Initial alterations of the cell following poisoning with carbon tetrachloride. J. Cell. Biol. 19, 139 - 157 (1963)

Reynolds, E.S. Comparison of the acute toxic effects of CCl_4, $CHCL_3$, ethanol, diethyl ether, thioacetamide, and dimethylnitrosamine. Fedn. Proc. Fedn. Amer. Socs. Exp. Biol. 24, 166 (1965)

Reynolds, E.S. Thiers, R.E. und Vallee, B.L. Mitochondrial function and metal content in the carbon tetrachloride poisoning. J. Biol. Chem. 237, 3546 - 3551 (1962)

Robbins, B.H. The absorption, distribution and excretion of carbon tetrachloride in dogs under various conditions. J. Pharmacol. Exp. Therap. 37 203 - 216 (1929)

Robinson, D.S. und Seakins, A. The development in the rat of fatty livers associated with reduced plasma-lipoprotein snythesis. Biochem. Biophys. Acta 62 163 - 165 (1962)

Rossi. F.
und
Zatti, M.
Activation of fatty acids in the liver in carbon tetrachloride poisoning.
Experientia 16, 513 - 514 (1960)

Rothschild, M.A.
Oratz, M.
Schreiber, S.S.
Effects of carbon tetrachloride on albumin synthesis.
J. Clin. Invest. 51,2310 - 2314 (1972)

Rubinstein, D.
und
Kanics, L.
The conversion of carbon tetrachloride and chloroform to carbon dioxide by rat liver homogenates.
Canad. J. Biochem. 42 1577 - 1585 (1964(

Sandritter, W.
und
Riede, U.N.
Morphology of liver cell necrosis. In: Pathogenesis and mechanisms of liver cell necrosis, ed. by D. Keppler, 1 - 14
MTP Press. ltd. St. Leonards House 1975

Schlede, E.
Varyin effect of phenibarbital on hepatic drug metabolism in rats of different ages.
Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 282, 311 - 315 (1974)

Schlede, E.
und
Borowski, R.
Decreased effect of phenobarbital treatment on microsomal drug metobolizing enzyme activity during gestation.
Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 281, 341 - 355 (1974)

Schlede, E.
und
Merker, H.J.
Effect of benzopyrene treatment on the benzopyrene hydroxylase activity in the maternal liver, placenta, and fetus of the rat during day 13 to day 19 of gestation.
Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 272, 89 - 100 (1972)

Schneider, W.C.
Striebich, M.J.
und
Hogeboom. G.H.
Cytochemical studies. VII localisation of endogenous citrate in rat liver fractions.
J. Biol. Chem. 222, 969 - 977 (1956)

Schwetz, B.A.
Keeler, P.A.
und
Gehring, P.J.
The effect of purified and commercial grade pentachlorophenol on rat embryonal and fetal development.
Tox. Appl. Pharmacol. 28, 151 - 161 (1974)

Schwetz, B.A.
Keller, P.A.
und
Gehring, P.J.
Effect of purified and commercial grade tetrachlorophenol on rat embryonal and fetal development.
Tox. Appl. Pharmacol. 28, 146 - 150 (1974)

Schwetz, B.A.
Leong, B.J.K.
und
Gehring, P.J.
Embryo- and fetotoxicity of inhaled carbon tetrachloride, I, I-dichloro-ethane and methyl ethyl ketone in rats.
Tox. Appl. Pharmacol. 28, 462 - 464 (1973)

Schwetz, B.A.
Leong, B.K.J.
Gehring, P.J.
Embryo- and fetotoxicity of inhaled chloroform in rats.
Tox. Appl. Pharmacol. 28, 442 - 451 (1973)

Shinozuka, H.
Unusual membrane alterations in the rough endoplasmic reticulum of rat liver cells after carbon tetrachloride injury.
Exp. Cell Res. 64, 380 - 386 (1971)

Slater, T.F.
Necrogenic action of carbon tetra-chloride in the rat: a speculative mechanism based on activation.
Nature 209, 36 - 40 (1966)

Slater, T.F.
Sträuli, U.D.
Sawyer, B.C.
Changes in liver mucleotide concentrations in experimental liver injury.
Biochem. J. 93, 260 - 266 (1964)

Smuckler, E.A.
Studies on carbon tetrachloride intoxication: IV. Effect of carbon tetrachloride on liver slices and isolated organelles in vitro.
Lab. Invest. 15, 157 - 166 (1966)

Smuckler, E.A.
Barker, E.A.
Benditt, E.P.
Carbon tetrachloride poisoning in rats.: alterations in ribosomes of the liver.
Science 140, 308 - 310 (1963)

Smuckler, E.A.
Benditt, E.P.
Studies on carbon tetrachloride intoxication. III. A subcellular defect in protein synthesis.
Biochemistry 4, 671 - 679 (1965)

Smuckler, E.A.
Iseri, O.A.
Benditt, E.P.
An intracellular defect on protein synthesis induced by carbon tetrachloride.
J. Exp. Med. 116, 55 - 72 (1962)

Stockinger, L.
Ultrastruktur und Histophysiologie der menschlichen Leber.
Wiener Klin. Wochenschrift 23, 431 - 434 (1969)

Sundareson, A.E.
An experimental study on placental permeability to cirrhogenic poisions.
J. Pathol. Bacteriol. 54, 289 - 298 (1942)

Svendsen, O. The ultrastructure of livers from chickens embryogenically injected with DDT. Acta Pharmacol. 33, 113 - 122 (1973)

Tappel, A.L.
Zalkin, H. Lipid peroxidation in isolated mitochondria. Arch. Biochem. Biophys. 80, 326 - 332 (1959)

Thiers, R.E.
Reynolds, E.S.
Vallee,B.L. The effect of carbon tetrachloride poisoning on subcellular metal distribution on rat liver. J. Biol. Chem. 235, 2130 - 2133 (1960)

Thoenes, W. Fett im Nucleolus. J. Ultrastruc. Res. 10, 194 - 206 (1964)

Thom, R.
Schlicht, I. Die Ultrastruktur der Rattenleber bei Tetrachlorkohlenstoffvergiftung und protrahierter Hypothermie. Virchow's Arch. Abt. A Path. Anat. 349, 115 - 123 (1970)

Tsirelnikov, N.I.
Doborovolskaya,S.G. Morphohistological study of the liver in embryos in case of administration of carbon tetrachloride at various stages of ontogenesis. Bjull. eksper. biol. med. Moskva 2, 117 (1973)

Tsyrlov, I.B.
Lyachovich, V.V. Damage effect of chronic intoxication by CCl_4 on structural organisation of liver microsomes and P-450. Biochem. Pharmacol. 21, 2540 - 2542 (1972)

Tzur, R.
Shapiro, B.
Dependence on microsomal lipid synthesis on added protein.
J. Lipid Res. 5, 542 - 547 (1964)

Ugazio, G.
Artizzu, M.
Pani, P.
Dianzani, M.U.
The changes in some hydrolytic enzymes in carbon tetrachloride induced fatty livers.
Biochem. J. 90, 109 - 116 (1964)

Unuma, T.
Senda, R.
Muramatsu, M.
Nature of the so-called fibrillar component in the segregated nucleolus after treatment of Actinomycin D.
J. Electron Mic. 21, 60 - 70 (1972)

Villarruel, M.C.
Diaz Gomez, M.I.
Castro, J.A.
The nature of the in vitro irreversible binding of carbon tetrachloride to microsomal lipids.
Tox. Appl. Pharmacol. 33, 106 - 114 (1975)

Villa-Trevino, S.
Farber, E.
Staehlin, T.
Wettstein. F.O.
Noll, H.
Breakdown and reassembly of rat liver ergosomes after administration of ethionine or puromycin.
J. Biol. Chem. 239, 2826 - 2833 (1964)

von Euler, L.H.
Rubin, R.J.
Handschuhmacher,R.E.
Fatty livers induced by orotic acid. II. Changes in nucleotide metabolism.
J. Biol. Chem. 238, 2464 - 2469 (1963)

Ware, R.A.
Chang, L.W.
Burkholder, P.M.
Ultrastructural evedence for foetal liver injury induced by in utero exposure to small doses of methylmercury.
Nature 251, 236 - 237 (1974)

Wigglesworth, J.S. The use of the osmium-ethyl gallate technique in the study of carbon tetrachloride liver injury. J. Pathol. Bacteriol. 87, 333 - 339 (1964)

Wilson, E.R.
Williams, W.L. Responses of fatty livers of mice to carbon tetrachloride. Anat. Rec. 163, 391 - 400 (1969)

Wirtschafter, Z.T.
Cronyn, M.W. Relative hepatotoxicity. Arch. Envir. Health 9, 180 - 185 (1964)

Wisse, E. Kupffer cell reactions under various conditions as observed in the electron microscope. J. Ultrastruc. Res. 46, 499 - 520 (1974)

Zollinger, H.U. Pathologische Anatomie
Band I: Allgemeine Pathologie
Band II: Spezielle Pathologie
3. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1971

Bildanhang

Abb. 1 : Mäuse-Embryo, Tag 16, CCl_4-Applikation Tag 15
Vergrößerung 1 : 17 500
Leberzellen im Bereich einer deutlich erweiterten Gallenkapillare (G.). Im Kern am unteren Bildrand (N) ein elektronendichter lipidähnlicher Einschluß (x). Die übrigen Zellorganellen z.B. Mitochondrien (M) und ER (→) unauffällig.

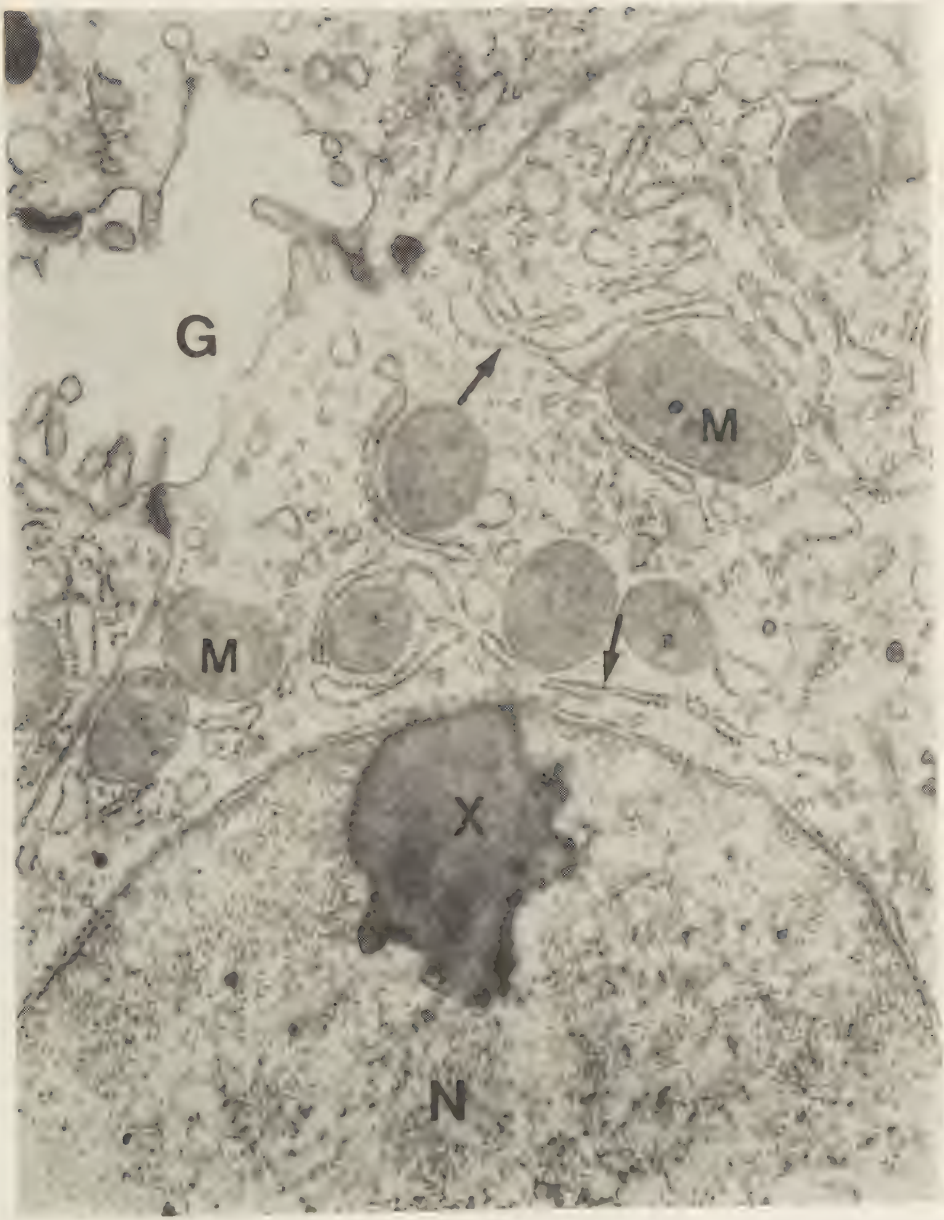

G
M
M
X
N

Abb. 2: Mäuse-Embryo, Tag 16, CCl_4-Applikation Tag 15
Vergrößerung 1 : 13 750
Sinus (S) mit Randbereich, Erythrozyt (Er) im Lumen. (E) Sinusendothelzelle mit deutlich verzahnter Nachbarzelle (→) und Lipideinlagerung (L).
Außerhalb des Endothels Anschnitte von Fibroblasten-ähnlichen Zellen (F), Monozytär-histiocytäre Übergangsformen (M) und Leberzellen (L).

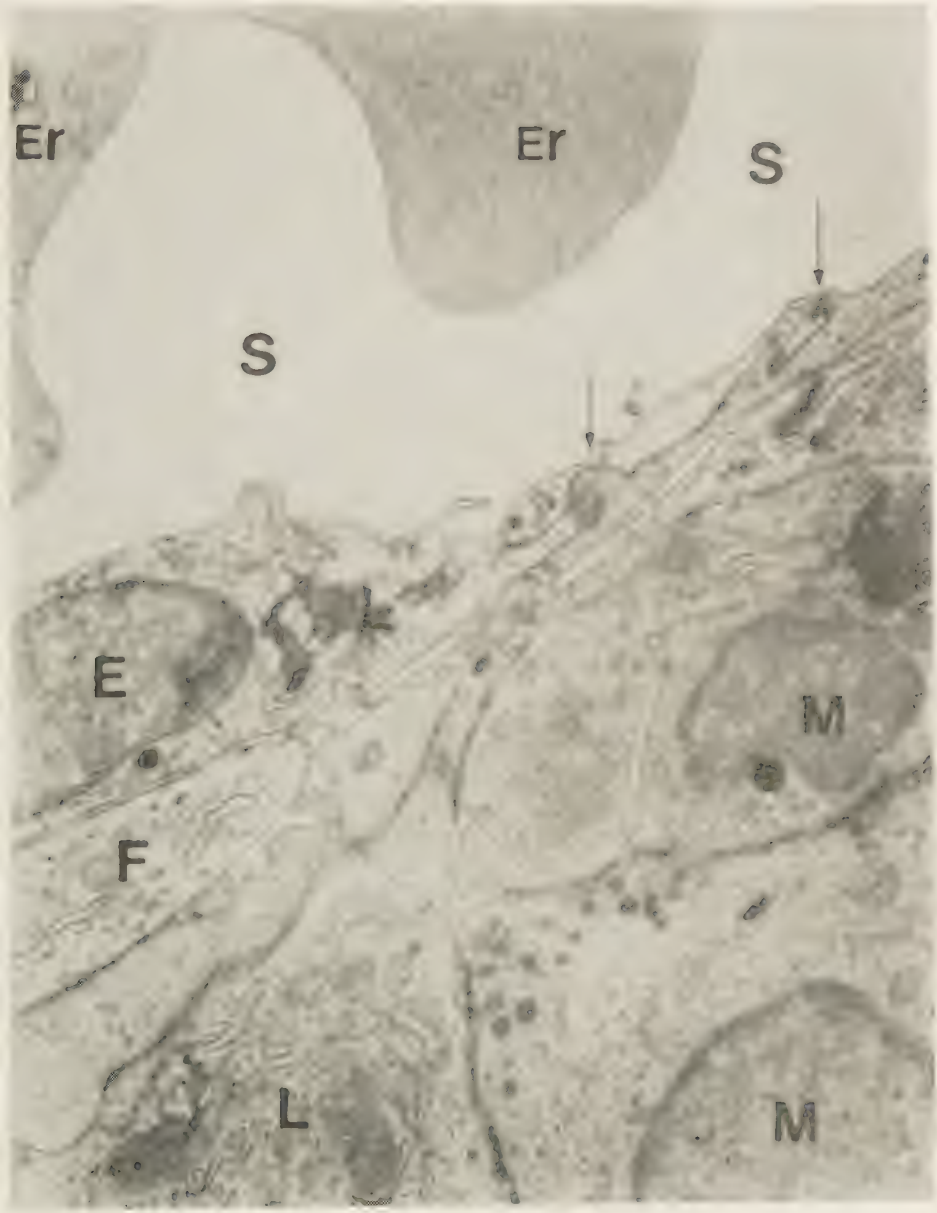

Er
Er
S
S
E
M
F
L
M

Abb. 3: Mäuse-Embryo, Tag 17, CCl_4-Applikation Tag 16
Vergrößerung 1 : 15 000
Leberzelle mit einem großen, bizarr geformten Lipideinschluß (→), große Glykogenareale (Gl). Ein Golgi-Apparat (GA) und die üblichen unauffälligen Zellorganellen z.B. Mitochondrien (M) und die kurzen Hohlräume des rauhen ER (x).

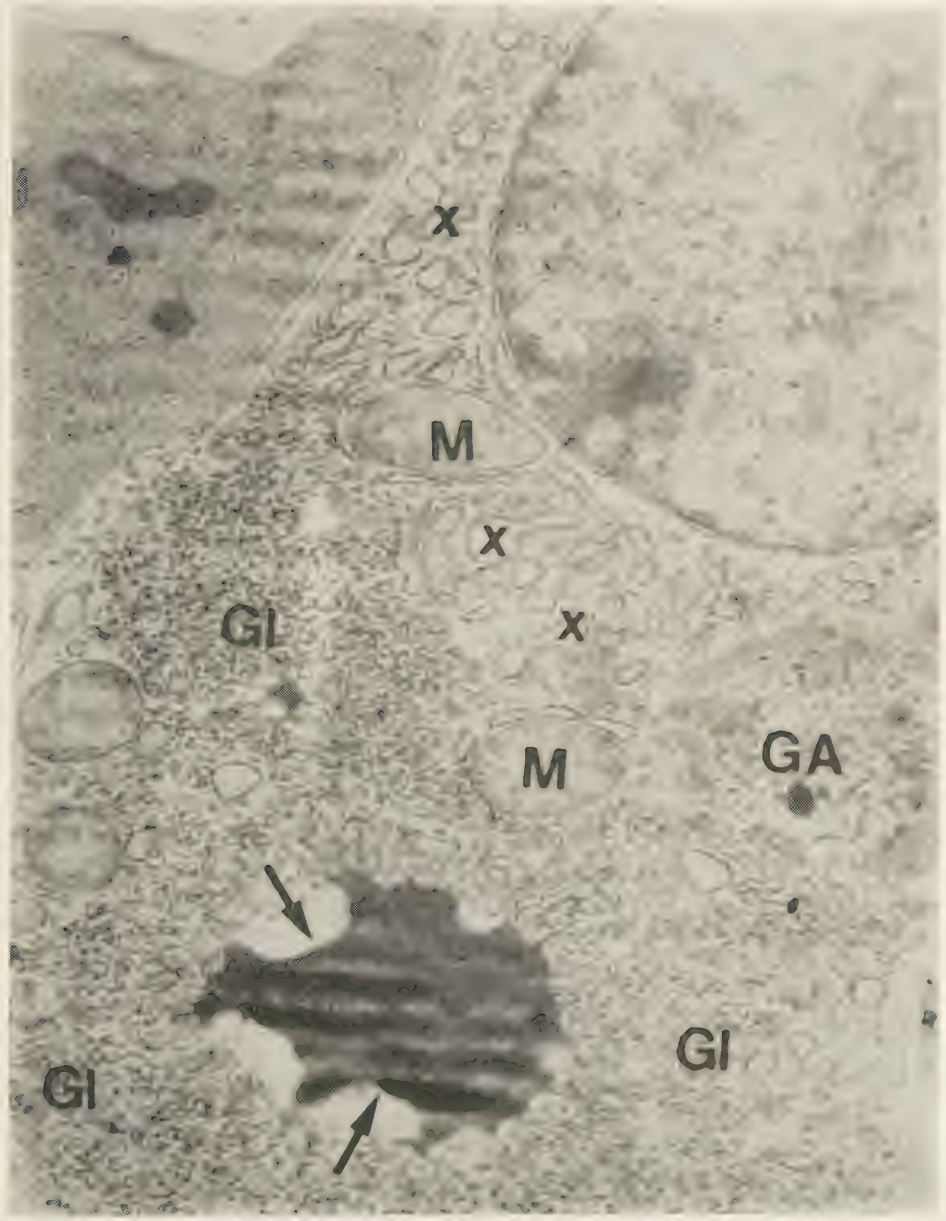

x
M
x
x
Gl
M
GA
Gl
Gl

Abb. 4: Maus, Tag 0 pp, Kontrolle (unbehandelt)
Vergrößerung 1 : 15 000
Leberzellen von unbehandelten Kontrolltier mit Gallenkapillaren (G), einem Nucleolus-haltigen Kern (N), Glykogenarealen (Gl), Mitochondrien (M) und vorwiegend parallelgepackten Hohlräumen des ER (ER).

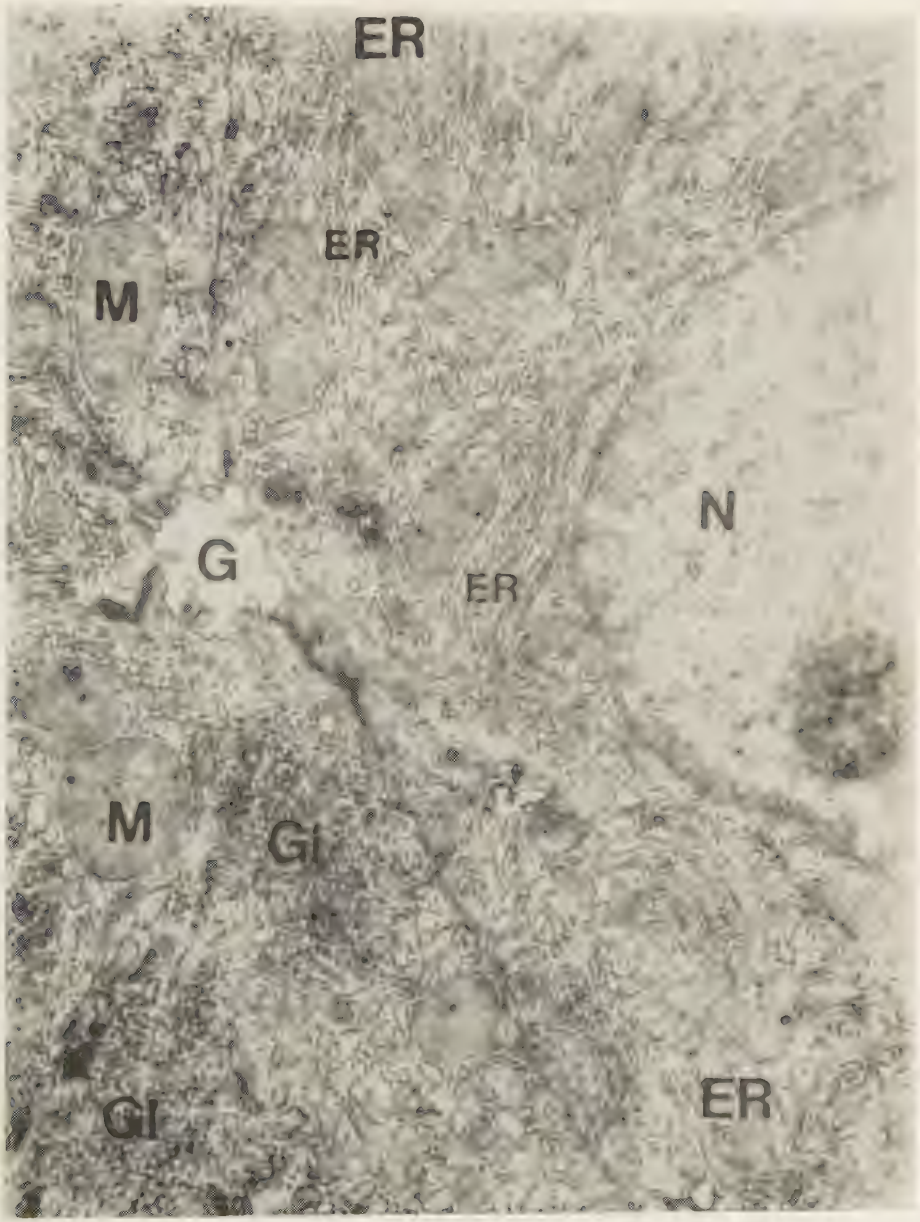

ER
ER
M
N
G
ER
M
Gl
Gl
ER

Abb. 5: Maus, Tag 0 pp, CCl_4-Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 10 250
Stark erweiterte Gallenkapillaren (G). In den angrenzenden Leberzellen angedeutete Auflösung der Membranpakete des ER. Golgi-Apparat (GA), mit einer stark ausgeprägten granulären Komponente. Bei N ein Leberzellkern mit drei Nucleoli. Bei EB Erythroblast in dichtem Kontakt mit Leberzellen.

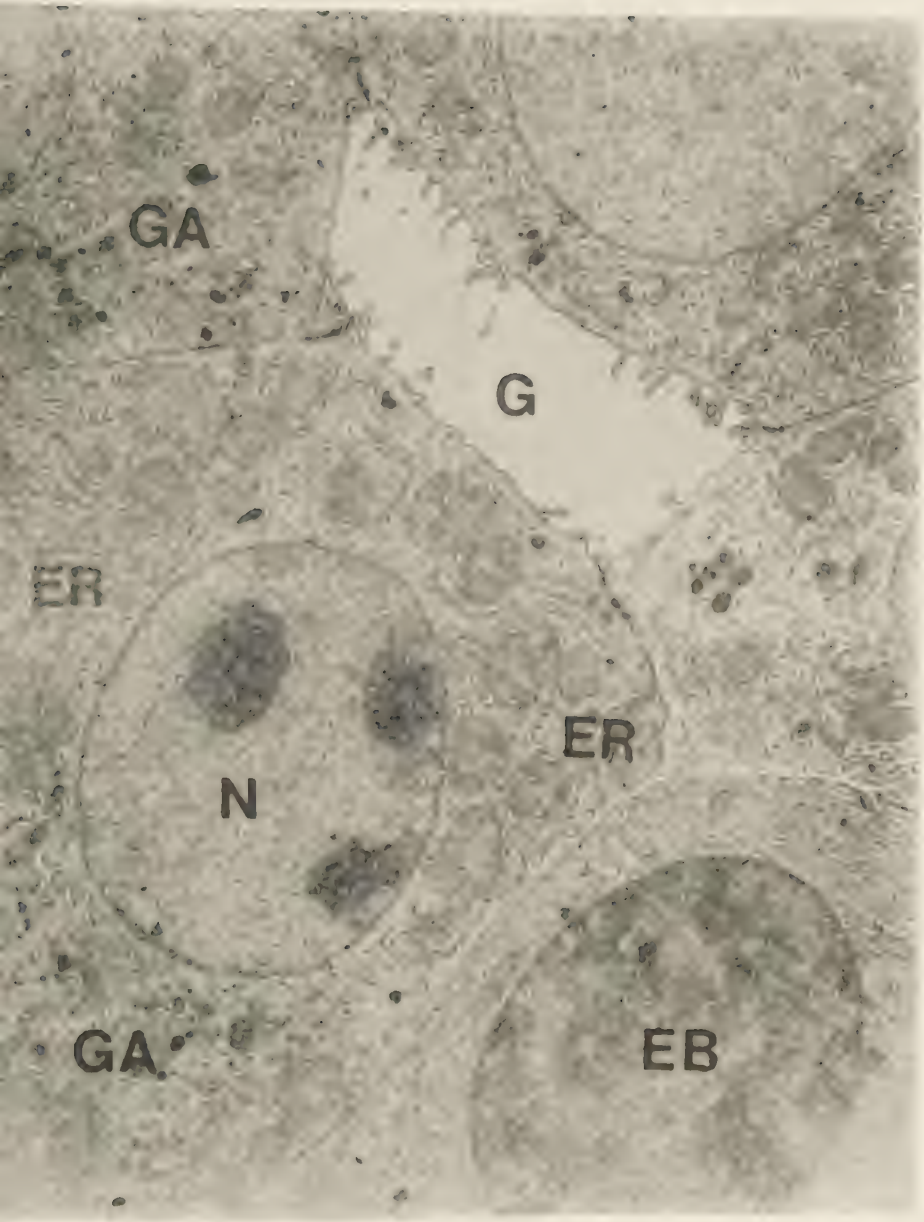

GA
G
ER
ER
N
GA
EB

Abb. 6: Maus, Tag 0 pp, CCl_4-Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 15 000
Zahlreiche bizarr geformte Lipideinschlüsse (L) mit einer eingelagerten granulären Komponente (→), Golgi-Apparat (GA), Mitochondrien (M). Das rauhe ER (x) vorwiegend in Form kleiner Fragmente.

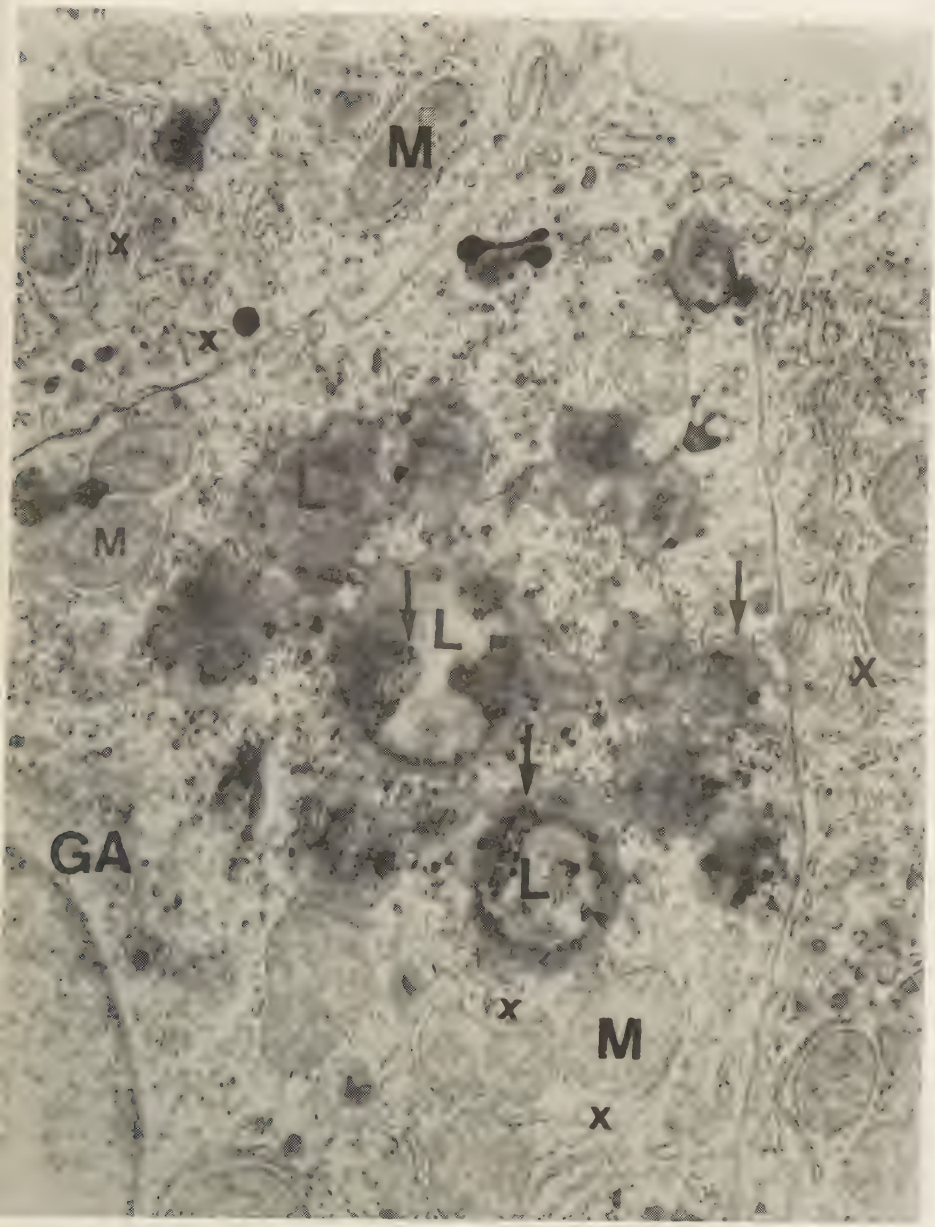

M
x
x
L
M
L
x
GA
L
x
M
x

Abb. 7: Maus, Tag 0 pp, CCl_4- Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 10 250
Kollabierter Sinusbereich (S) weitgehend ausgefüllt mit Sinusendothel (E) und einer Fibroblasten-ähnlichen Zelle (F). Im Zytoplasma der Leberzellen zahlreiche Lipideinschlüsse, ein Golgi-Apparat (GA) mit zahlreichen Granula.

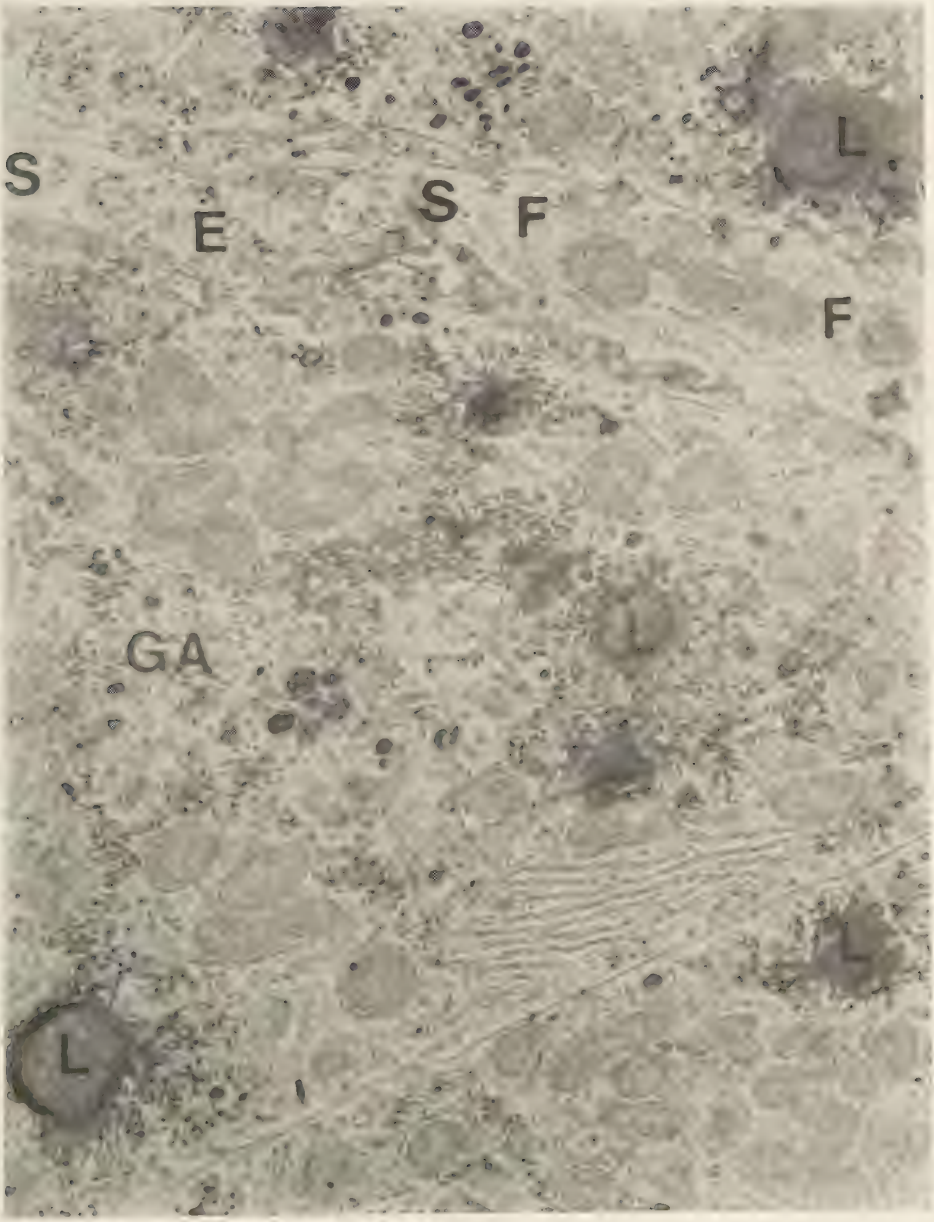

S
E
S
F
L
F
GA
L
L

Abb. 8: Maus, Tag 0 pp, CCl_4-Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 13 750
Angeschnittener Histiozyt (H) mit zahlreichen elektronendichten phagocytierten Einschlüssen (→). Im Zytoplasma der Leberzellen Lipideinschlüsse (L), zahlreiche Mitochondrien (M), die teilweise eine beträchtliche Größe erreichen (✱).
Zahlreiche Granula in der Peripherie der Leberzelle (⊢);bei NG neutrophiler Granulozyt.

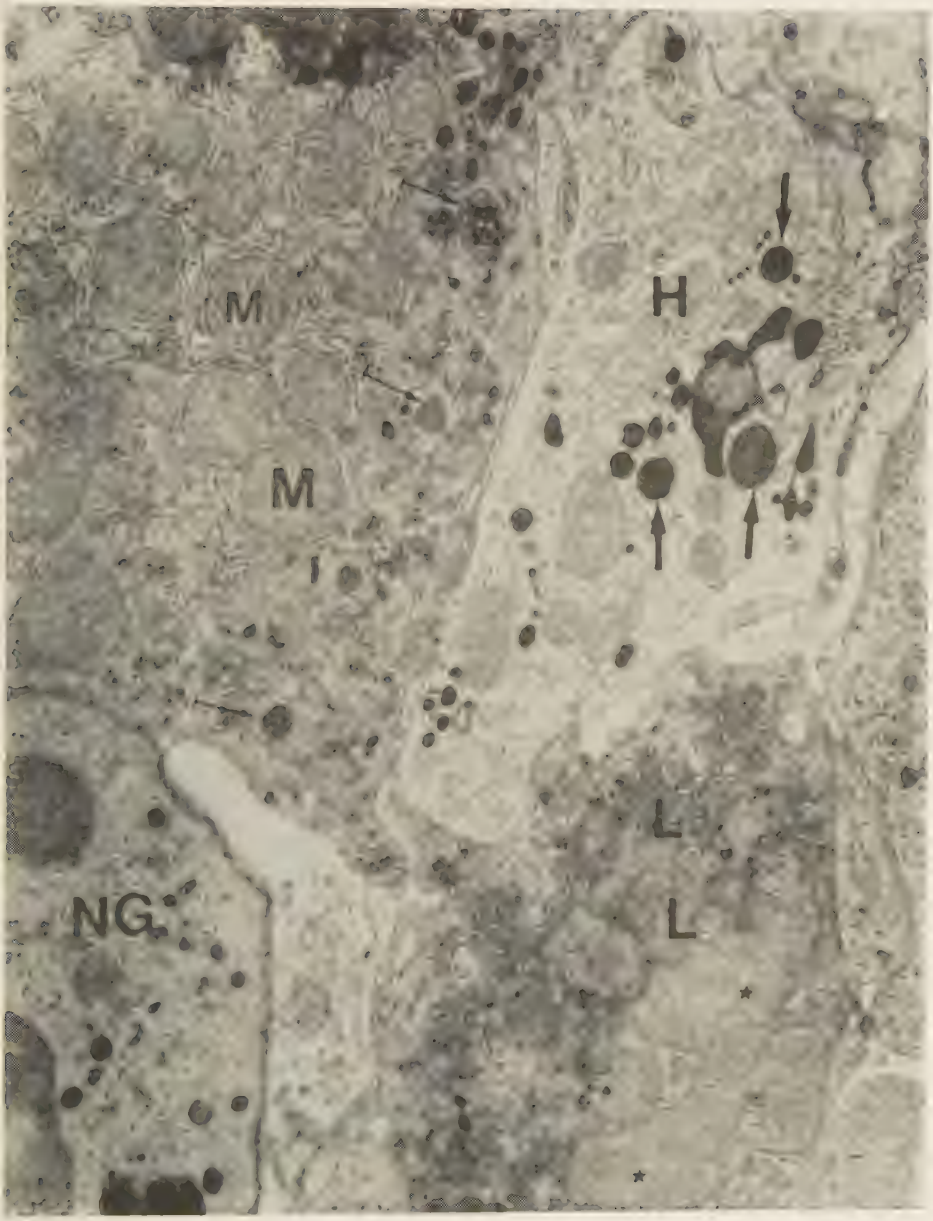

M
M
H
L
L
NG

Abb. 9: Maus, Tag 0 pp, CCl_4-Applikation am Tag 17
Vergrößerung 1 : 15 000
Anschnitte von drei Leberzellen mit Lipideinschlüssen (→); Fragmente des rauhen ER (ER) und ein Areal mit glattem ER (GER). Unterschiedlich große Mitochondrien (M).

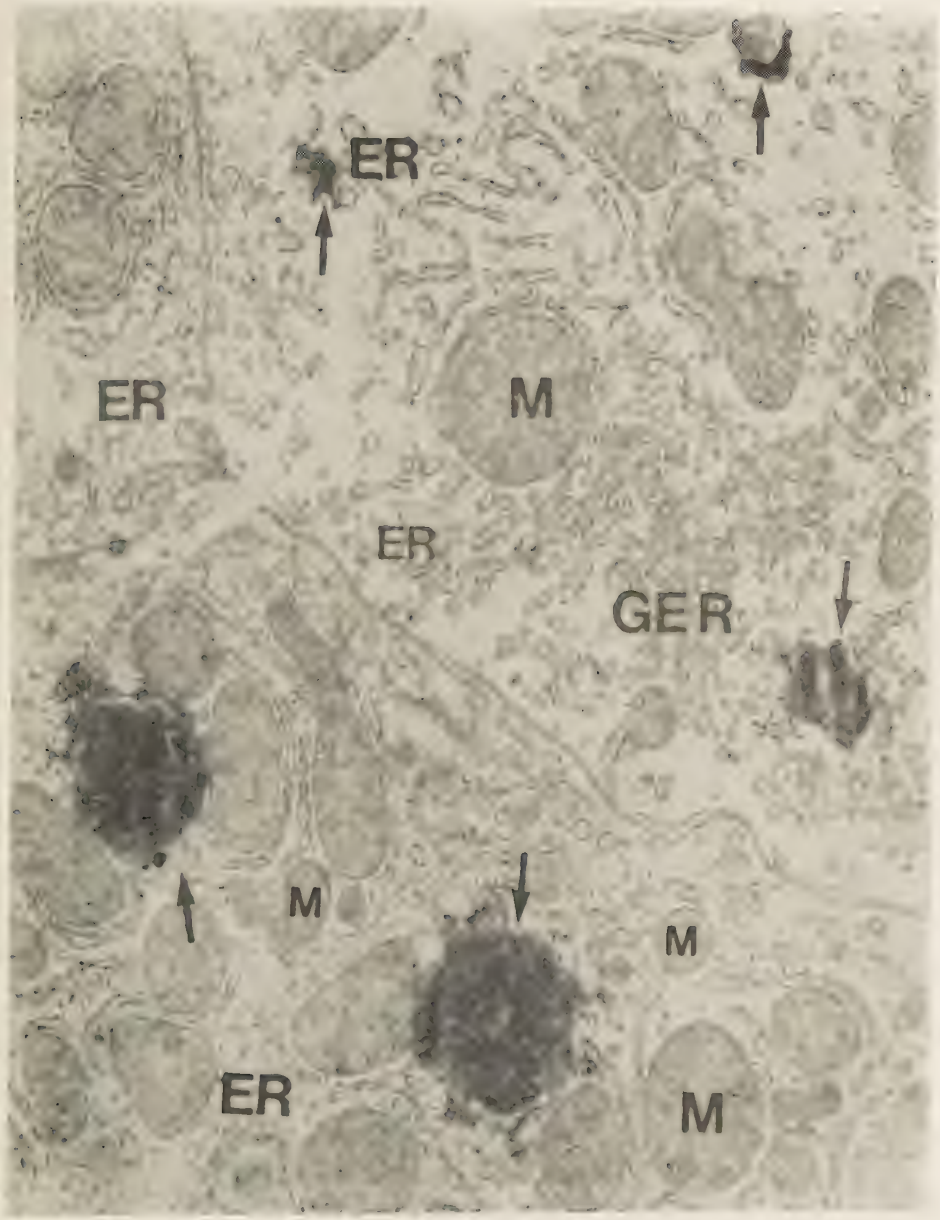

ER
ER
M
ER
GER
M
M
ER
M

Abb. 10: Maus, Tag 0 pp, CCl_4-Applikation am Tag 17
Vergrößerung 1 : 18 750
Riesenform eines Mitochondrion (M), daneben Fragmente des rauhen ER (x).

M
M

Abb 11: Maus, Tag 0 pp, CCl_4-Applikation am Tag 18
Vergrößerung 1 : 8 000
Sinus (S), ausgefüllt mit verdicktem Sinusendothel (E) und einer monozyten-ähnlichen Zelle (M) in der Fortsetzung ein Areal mit phagozytierenden Zellen und ein Fibroblast (F). Daneben eine verdichtete lipidhaltige Zelle mit normalem Zellkern (N1) und eine Zelle mit pyknotischem Zellkern (N2) und starker Schwellung der endoplasmatischen Hohlräume (x).

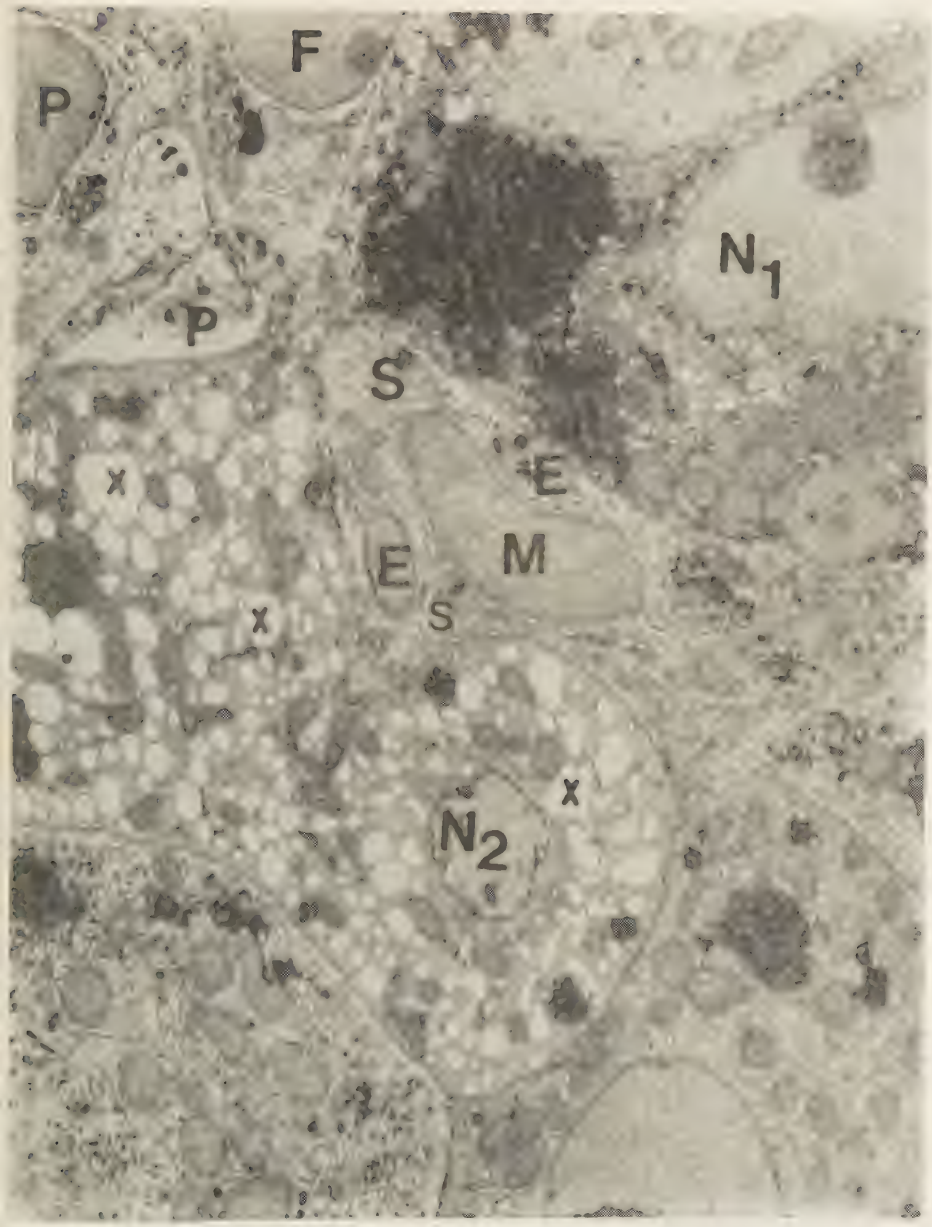

F
P
P
S
E
E
M
S
N1
N2
x
x
x

Abb. 12: Maus, Tag 0 pp, CCl_4-Applikation am Tag 18
Vergrößerung 1 : 11 250
Leberzelle mit Lipideinschlüssen (→) und fragmentiertes ER (ER), das z.T. deutlich erweitert ist (x) bei 1 eine lymphozytenähnliche Zelle; am oberen Bildrand eine verdichtete Leberzelle (*).

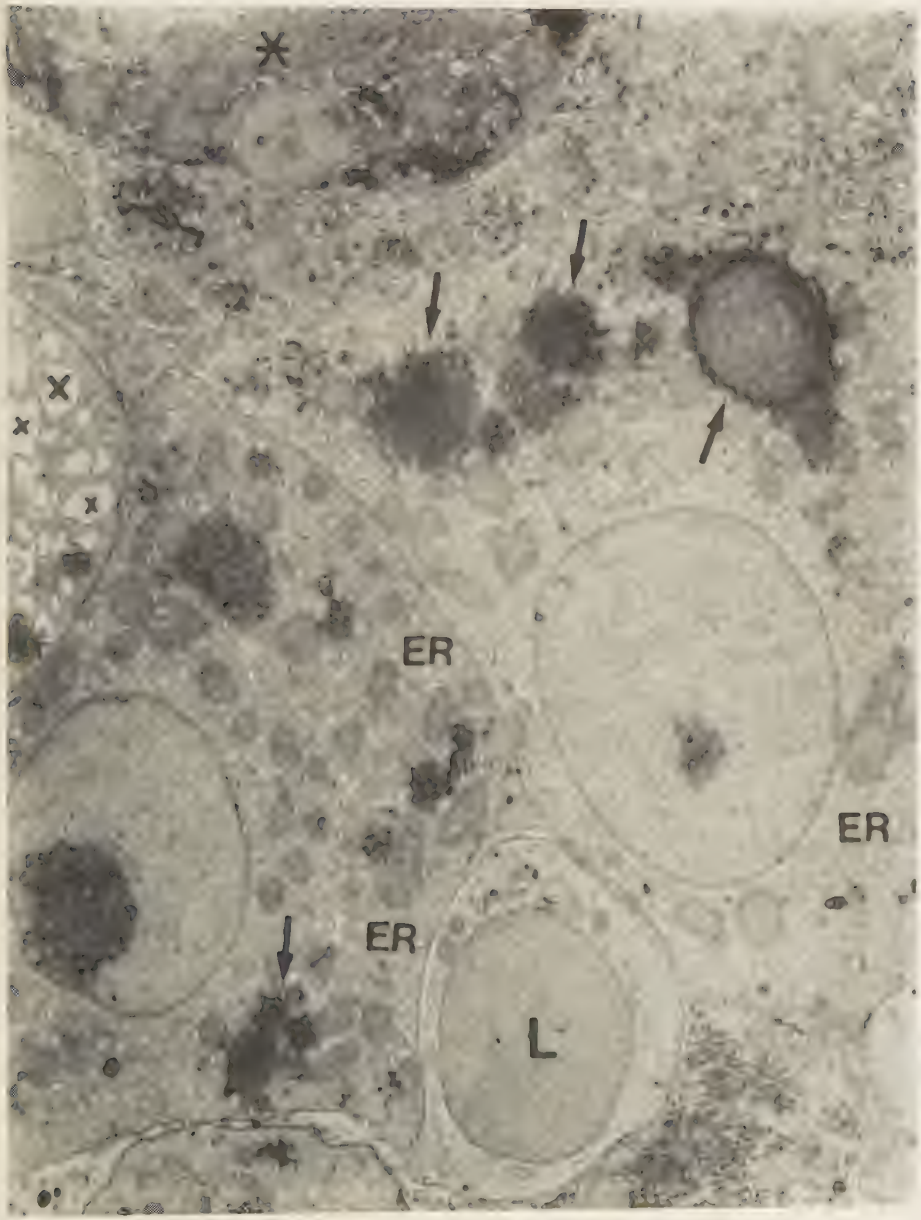

ER
ER
ER
L

Abb. 13: Maus, Tag 0 pp, CCl_4-Applikation am Tag 18
Vergrößerung 1 : 15 000
Mitochondrien, deren Kontur durch Einbuchtung verformt ist (M), teilweise Riesenformen (→)
Bei Gl Glykogenareale.

Gl
M
M
M

Abb. 14: Maus, Tag O Pp, CCl_4-Applikation am Tag 18
Vergrößerung 1 : 6 250
Normaler Sinus mit Erythrozyt (S1); anderer Sinus (S2) ausgefüllt mit geschwollener und phagozytierender Zelle. Einzelne Vorstufen der roten Reihe (Er) bei NG ein neutrophiler Granulozyt. Die Leberzellen sind gekennzeichnet durch zahlreichen Fetteinschlüsse (→) und zum Teil durch ein fragmentiertes rauhes ER (ER).

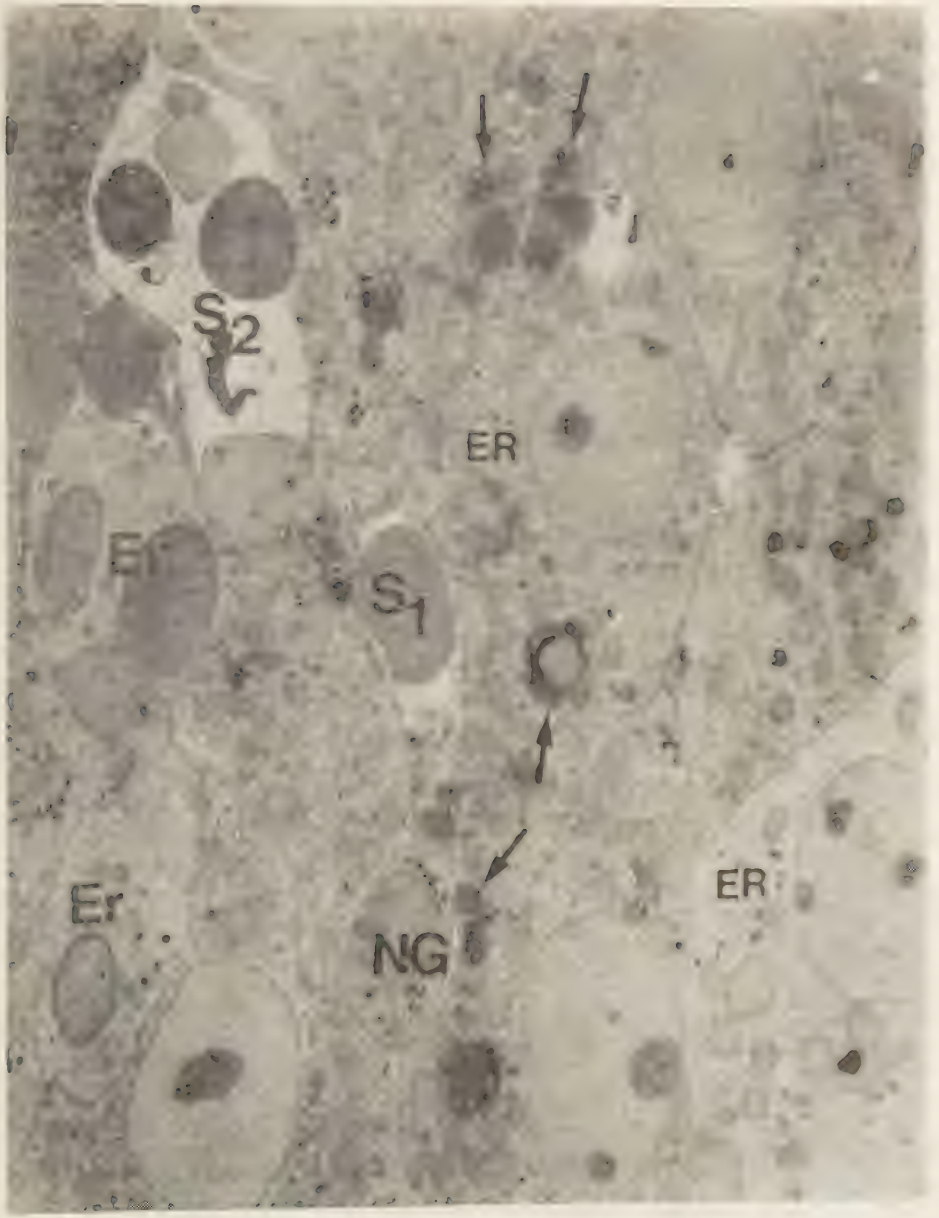

S2
ER
Er
S1
Er
NG
ER

Abb. 15: Maus, Tag 0 pp, CCl_4- Applikation am Tag 18
Vergrößerung 1 : 11 250
Mesenchymzelle (MZ) zwischen Leberzellen, die zum Teil Fetteinschlüsse (→) und ein fragmentiertes rauhes ER (ER) aufweisen. Bei GA ein geblähter Golgi-Apparat.

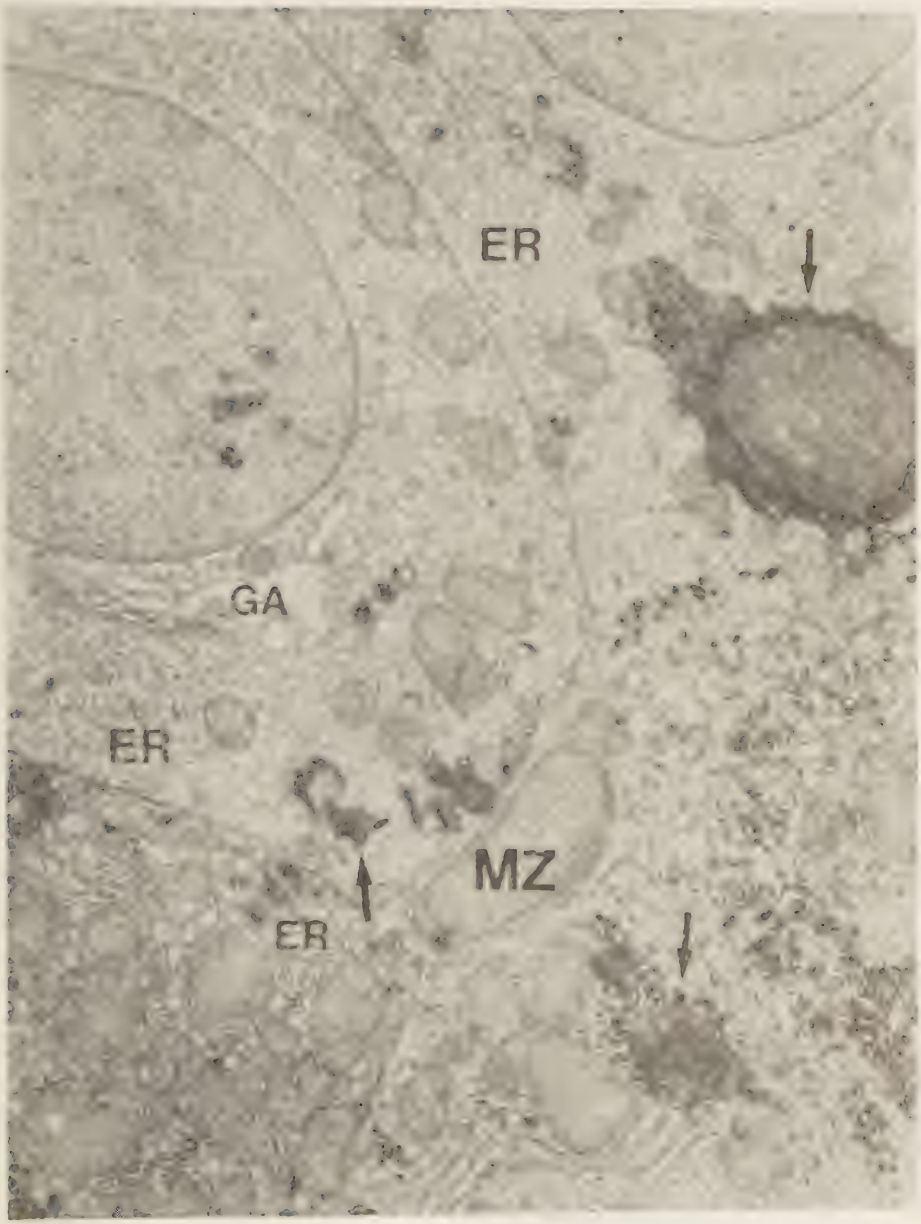

ER
GA
ER
MZ
ER

Abb 16: Maus, Tag 1 pp, Kontrolle (unbehandelt)
Vergrößerung 1 : 11 250
Lebersinus mit einer Endothelauskleidung, die zahlreiche Lücken aufweist (→); bizarr geformte Lipideinschlüsse (⊬), dicht gepackte Hohlräume des rauhen ER's (ER) und Mitochondrien im Zytoplasma (M).
Bei GA ein Golgi-Apparat, bei GER ein Areal mit glattem ER.

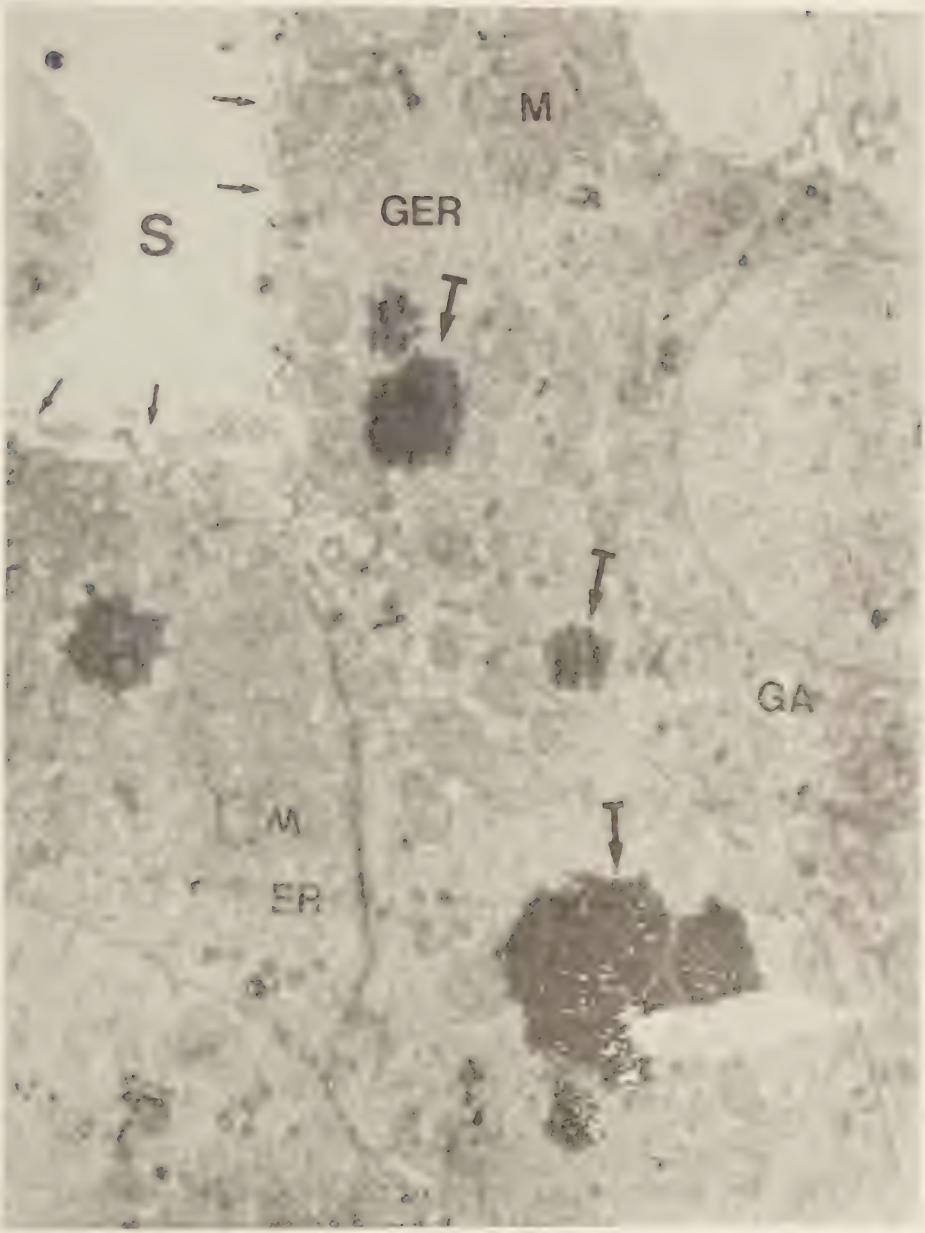

M
S
GER
GA
M
ER

Abb. 17: Maus, Tag 1 pp, CCl_4-Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 12 500
Kontinuierliche Endothelauskleidung (E)
eines Sinus (S) mit starker Verzahnung
der Nachbarzelle (→). Relativ unauffälliges
Zytoplasma mit Mitochondrien (M), ER und
einem großen aufgelockerten Kern (N).

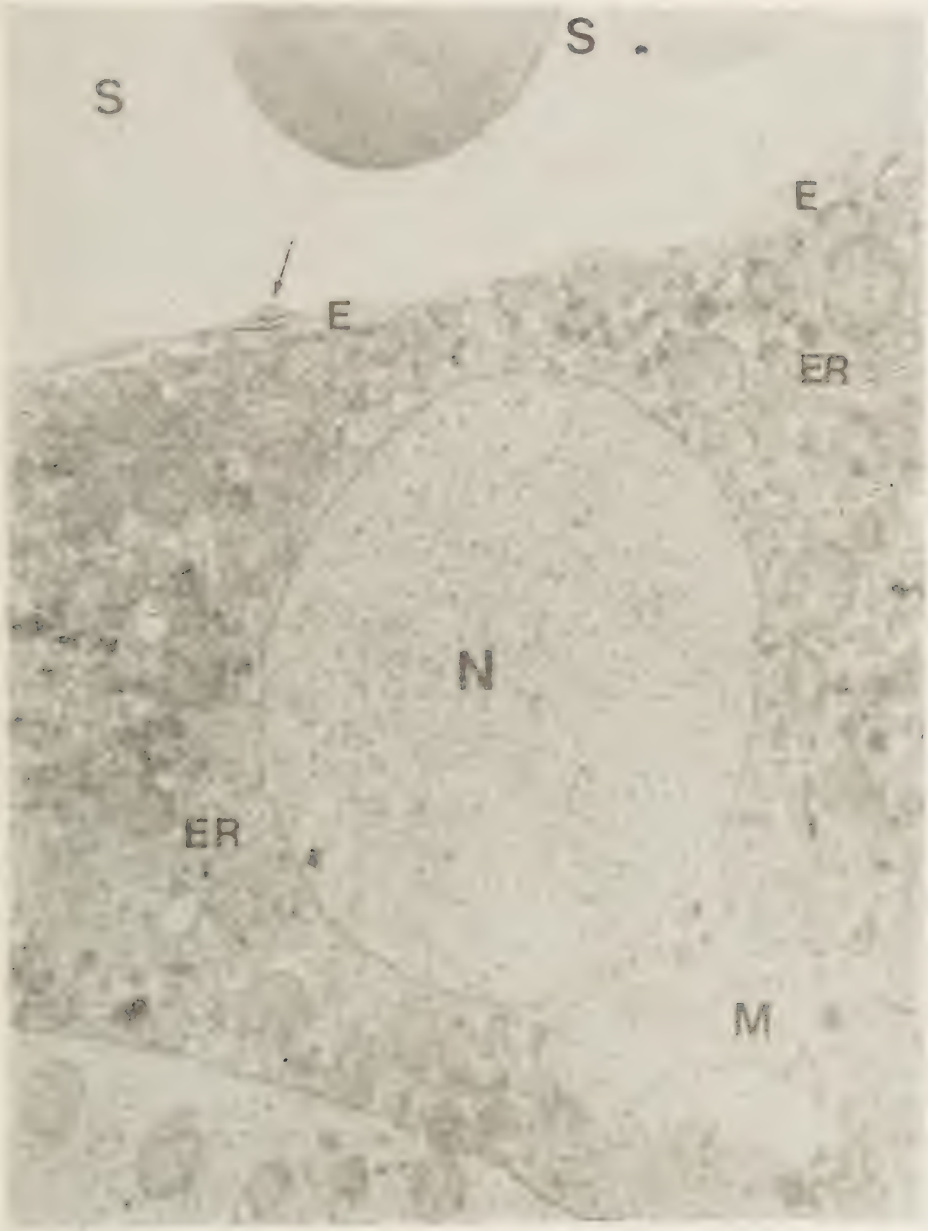

S
S
E
E
ER
N
ER
M

Abb. 18: Maus, Tag 1 pp, CCl_4-Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 17 500
Verdicktes Endothel (E) ohne Poren und Lücken, jedoch mit zahlreichen Zellorganellen. Zum Disse'schen Raum hin zahlreiche Fortsätze der Leberzellen (x).
S = Sinusoid, N = Leberzellkern mit Nucleolus

E
N
S
E
E

Abb. 19: Maus, Tag 1 pp, CCl_4-Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 11 250
Sinus (S), der durch eine große Endothelzelle (E) verengt ist. An den Berührungspunkten der Endothelzellen (→) enger Zellkontakt. Im Zytoplasma der angrenzenden Leberzellen Lipideinschlüsse und zahlreiche elektronendichte Granula (⊢).

S
O
E
S

Abb 20: Maus, Tag 1 pp, CCL_4-Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 10 000
Anschnitte von Mesenchymzellen (M) zwischen Leberzellen mit Fetteinschlüssen (L) und teilweise fragmentiertem ER (ER).

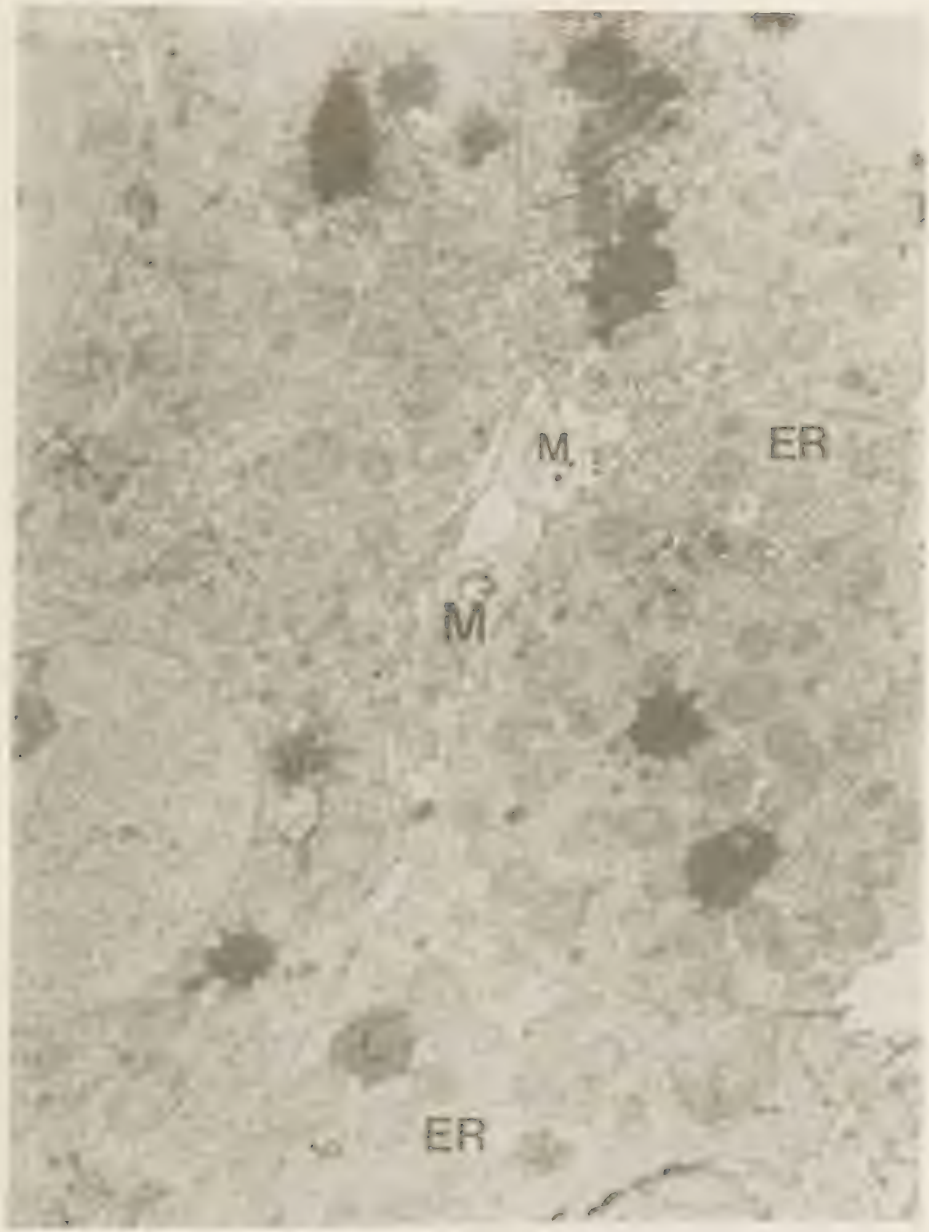

M
ER
M
ER

Abb. 21: Maus, Tag 1 pp, CCl_4-Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 11 250
Leicht erweiterte Gallengänge (GK) bei 1
eine lymphozyten-ähnliche Zelle zwischen
den Leberzellen.

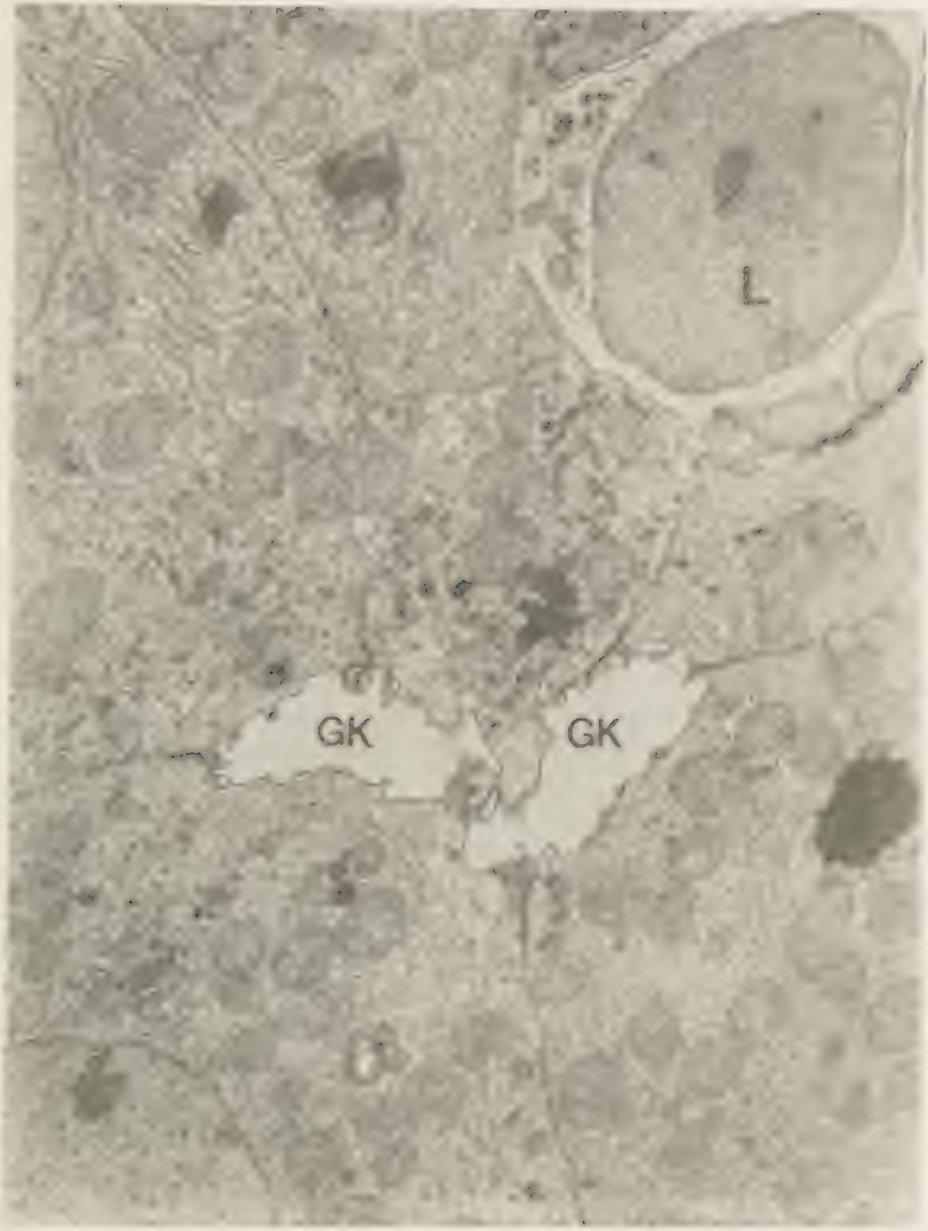

L
GK
GK

Abb 22: Maus, Tag 3 pp, CCl_4- Applikation am Tag 17
Vergrößerung 1 : 13 750
Eine relativ undifferenzierte Mesenchymzelle (M1) und eine stark verfettete Mesenchymzelle (M2) zwischen Leberzellen (LZ). Diese Region stellt möglicherweise einen obliterierten Sinus dar.

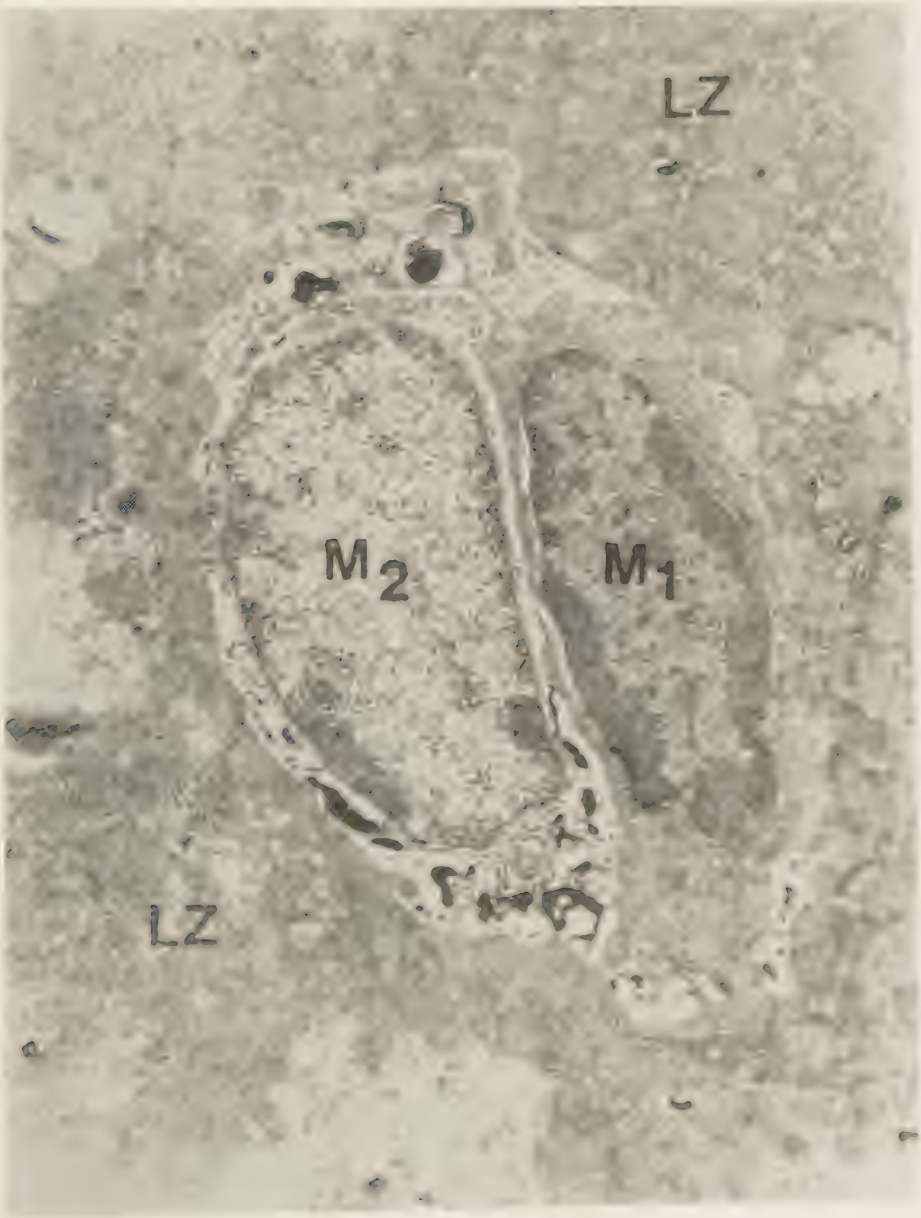

LZ
M2
M1
LZ

Abb. 23: Maus, Tag 3 pp, CCl_4-Applikation am Tag 17
Vergrößerung 1 : 17 900
Kollabierter Sinusbereich (S)

S
S

Abb 2_4: Maus, Tag 3 pp, CCl_4-Applikation am Tag 17
Vergrößerung 1 : 15 800
Phagozytierende Zelle (P) mit zahlreichen runden, langgestreckten oder ausgezogenen Einschlüssen (→) - primäre Lysosomen? - Auch außerhalb der Zelle elektronendichte Strukturen (x).

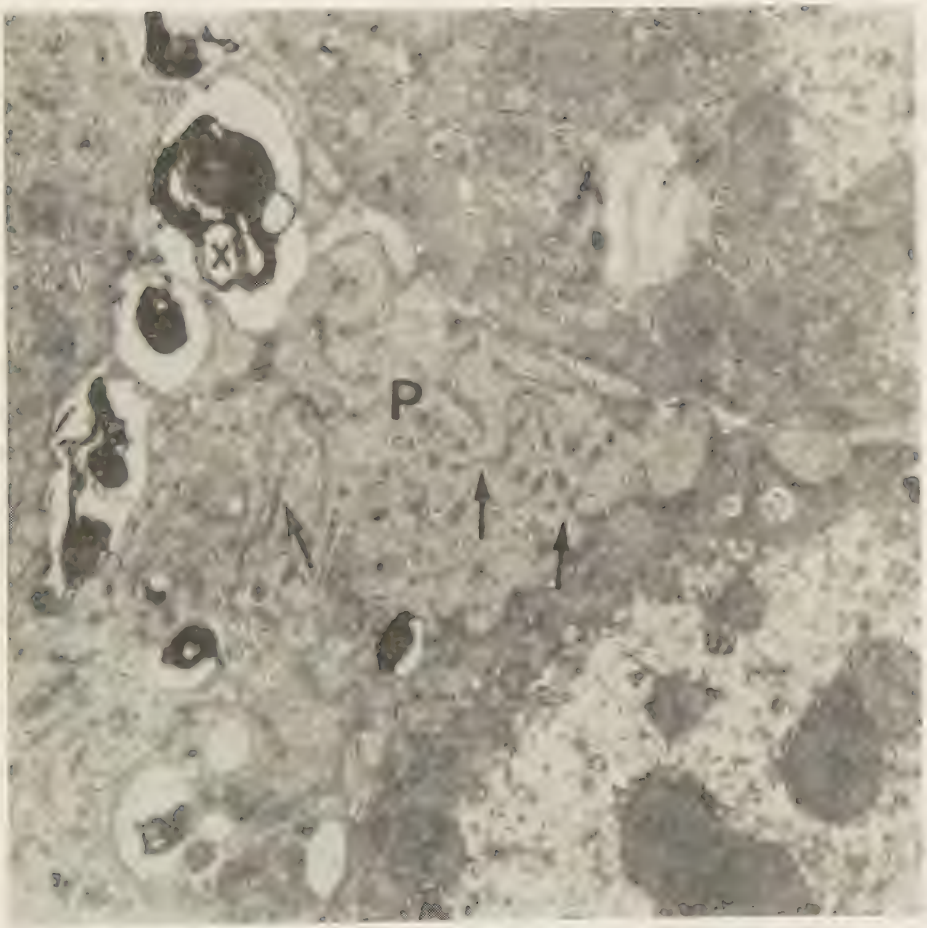

X
P

Abb. 25: Maus, Tag 3 pp, CCl_4-Applikation am Tag 17
Vergrößerung 1 : 24 750
Phagozytierende Zelle (P) mit einem riesigen Einschluß (*).

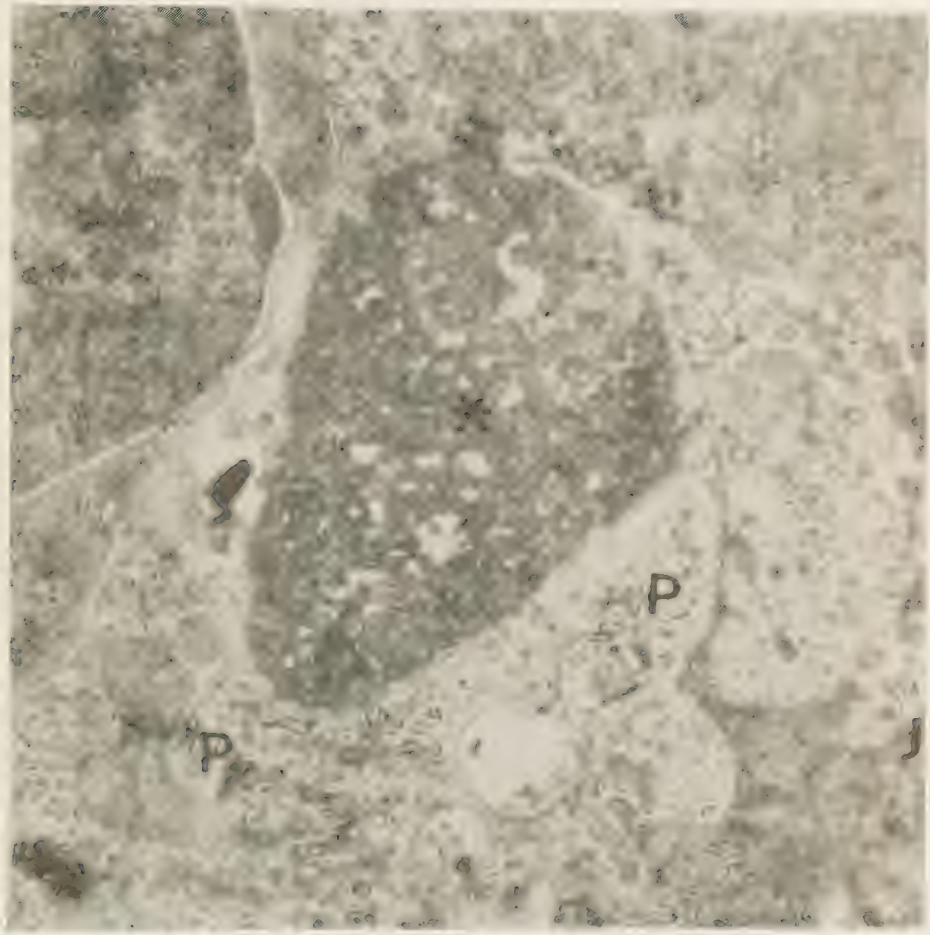

P
P

Abb. 26: Maus, Tag 10 pp, CCl_4-Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 15 800
Zwei langgestreckte Fibroblasten-ähnliche Zellen (F) und andere Mesenchymzellen (M) zwischen Sinusendothel (E) und Leberparenchym (L).

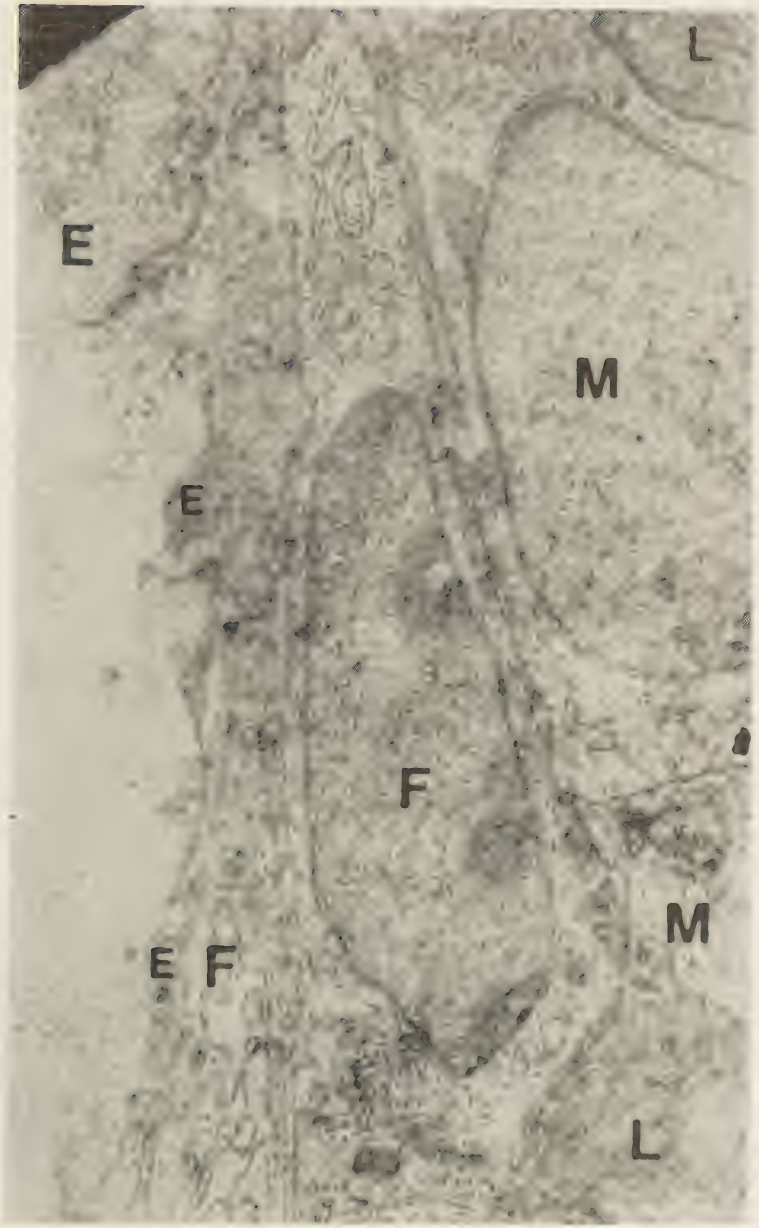

L
E
M
E
F
M
E F
L

Abb. 27: Maus, Tag 1 pp, CCl_4-Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 15 000
Kollabierte Sinus (→), ausgefüllt durch breite Endothelzellen (E), die zahlreiche Zellorganellen enthalten. Viel Fortsätze der Leberzellen zum Disse'schen Raum hin (x).

E
E
E

Abb. 28: Maus, Tag 10 pp, CCl_4-Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 15 800
Fibroblasten-ähnliche Zelle (F) mit stark erweitertem rauhen ER (x) zwischen lückenlosen stark verzahnten (→) Endothel (E) und Leberzelle (L).

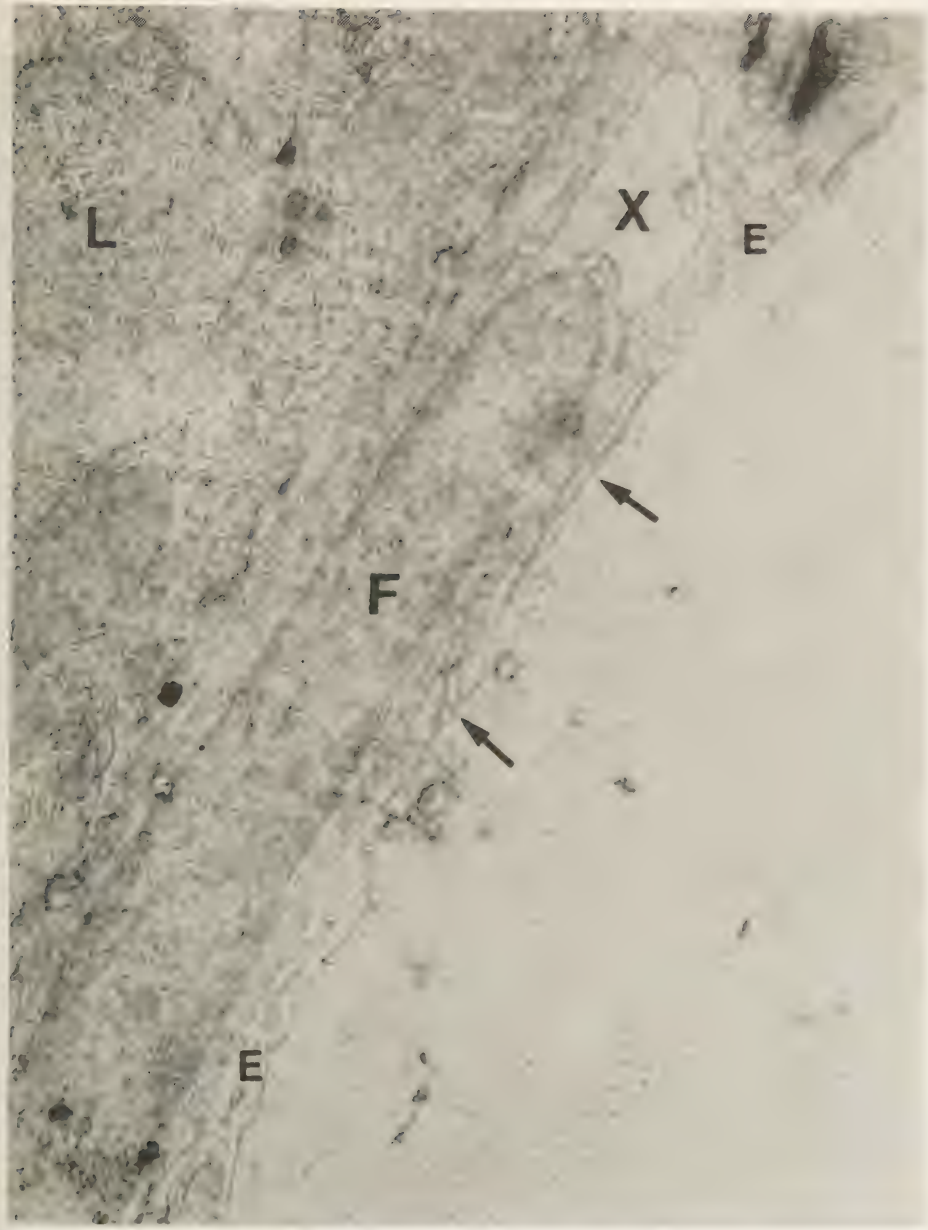

L
X
E
F
E

Abb. 29: Maus, Tag 10 pp, CCl_4- Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 15 000
Sinusbereich ausgemauert mit geschwollenen Endothelzellfortsätzen (E) und einer phagozytierenden Zelle (P) mit zahlreichen Granula (x).

E
P
P
x
E
E
E

Abb. 30: Maus, Tag 14 pp, CCl_4-Applikation am Tag 17
Vergrößerung 1 : 13 700
Unterschiedlich strukturierte Leberzellen in enger Nachbarschaft. L1 eine stark aufgelockerte Leberzelle mit locker gepackten teilweise erweitertem oder fragmentiertem ER (x). Bei L2 dicht gepackte Zellorganellen in einer Leberzelle mit parallelverlaufenden Hohlräumen des ER.(ER)

L1
ER
L2
ER

Abb. 31: Maus, Tag 14 pp, CCl_4-Applikation am Tag 17
Vergrößerung 1 : 13 700
L1 Leberzelle mit stark aufgelockerten Zytoplasma und erweiterten Hohlräumen des ER's (x), daneben (L2) eine Leberzelle mit dicht gepackten Zellorganellen und parallelverlaufenden Hohlräumen des ER's (ER). Bei GK eine Gallenkapillare mit nur wenig und kurzen Microvilli.

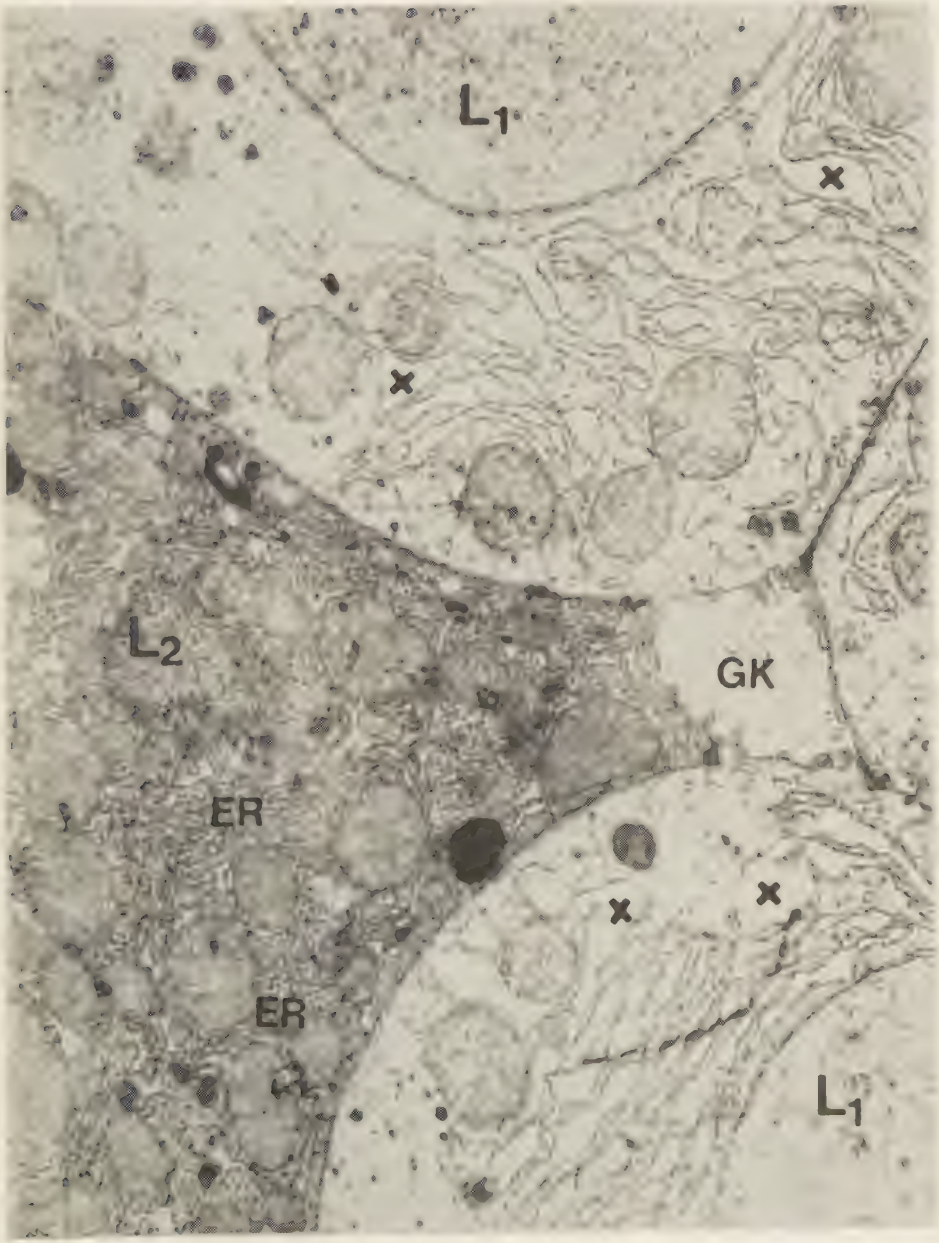

L1
L2
GK
ER
ER
L1

Abb. 32: Maus, Tag 24 pp, CCl_4-Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 19 900
Fibroblasten-ähnliche Zelle (→) mit erweitertem ER (x) und einem großen Golgi-Apparat (GA) zwischen Leberzellen (L).

L
X
L

Abb. 33: Maus, Tag 24 pp, CCl_4-Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 13 000
Histiocyten (H) mit kleineren elektronendichten (→) und Lipideinschlüssen, die ein Sinuslumen ausmauern. Bei Er ein Erythrozyt. Das Sinusendothel ist stellenweise noch sichtbar (⊦).

L
H
H
L

Abb. 34: Maus, Tag 24 pp, CCl_4-Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 20 000
Anschnitt eines Histiozyten mit Einschlüssen (→), die als primäre Ribosomen identifiziert werden müssen. Zur Leberzelle (L) ein Disse'scher Raum (x).

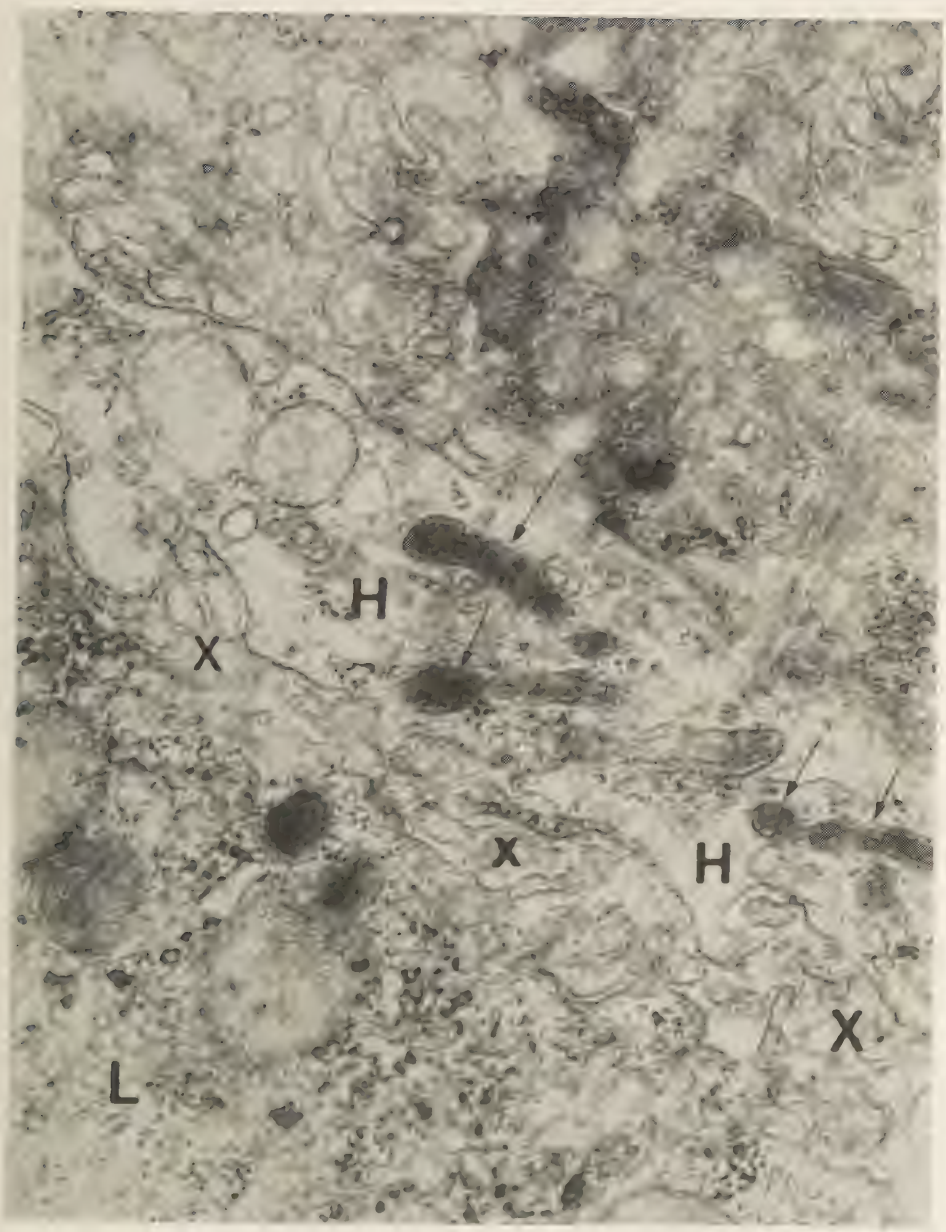

H
X
X
H
X
L

Abb. 35: Maus, Tag 24 pp, CCl_4-Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 16 000
Phagocytierende Zelle (P) mit zahlreichen
Phagolysosomen (→), die ein Sinuslumen (S)
ausmauert.

P
P
S

Abb. 36: Maus, Tag 24 pp, CCl_4-Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 16 250
Kollabierter Sinus (→) mit verbreitertem Endothel (E). Zahlreiche Fortsätze der Leberzellen im Disse'schen Raum (x).

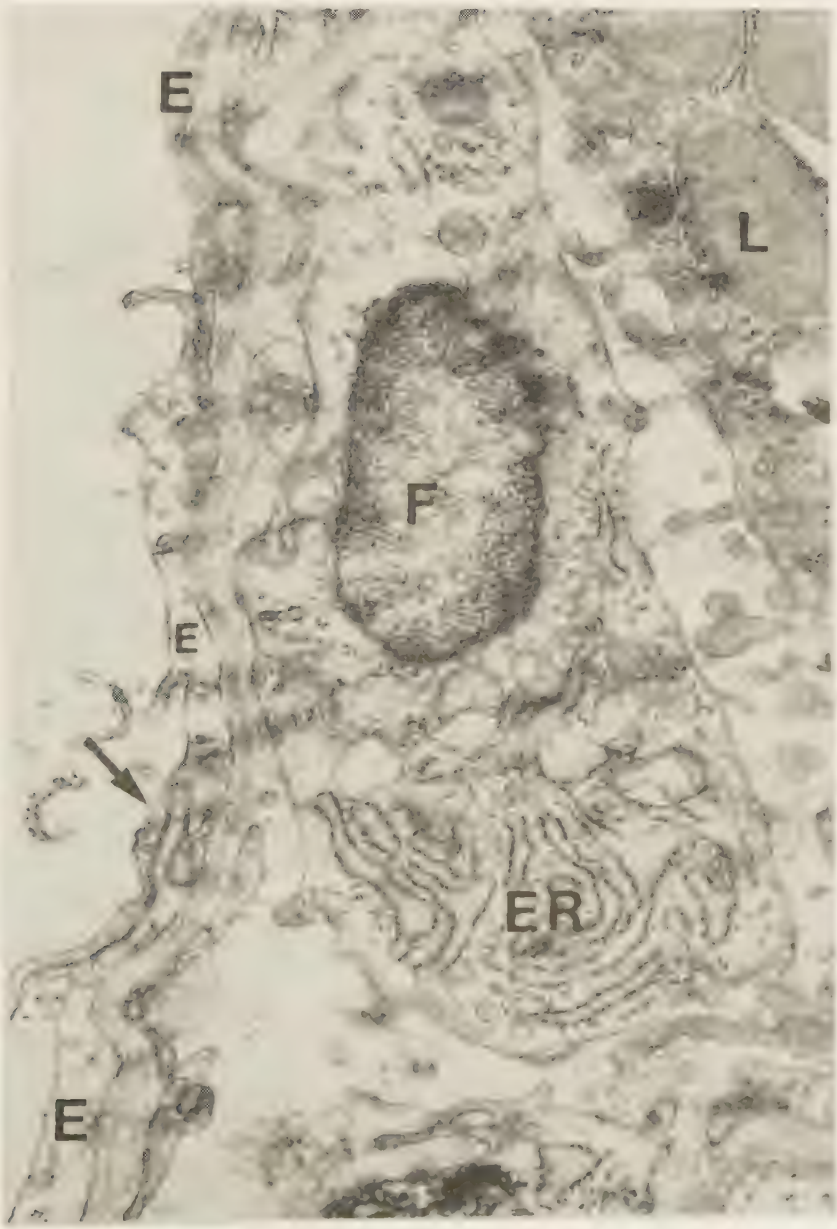
X
X
E
E
X
X

Abb. 37: Maus, Tag 24 pp, CCl_4-Applikation am Tag 16
Vergrößerung 1 : 10 900
Langgestreckte verdichtete Mesenchymzelle (→) in einem Sinuslumen; die Zellfortsätze im Disse'schen Raum sind deutlich sichtbar (x).

Abb. 38: Maus, Tag 24 pp, CCl_4-Applikation am Tag 18
Vergrößerung 1 : 21 200
Monozyten-ähnliche Histiocytenvorstufe (M)
in einem Sinuslumen (x = Disse'scher Raum).

X
M
X
X

Abb. 39: Maus, Tag 24 pp, CCl_4-Applikation am Tag 18
Vergrößerung 1 : 21 200
Fibroblast (F) mit stark entwickeltem rauhen ER (ER) zwischen lückenlosen, stark verzahnten (→) Sinusendothel (E) und Leberzelle (L).


E
L
F
E
ER
E

Herrn Professor Dr. med. H.-J. Merker danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und für die freundliche Hilfe bei der Durchführung dieser Arbeit.

Mein Dank gilt ebenfalls den Assistenten und Mitarbeitern der WE Anatomie der Freien Universität Berlin, besonders Herrn Ass. Prof. Dr. H. Adhami sowie den Damen Frl. U. Krüger und Frau G. Lange für die stets freundlich gewährte Unterstützung.

Lebenslauf

Am 17. 11. 1950 wurde ich als zweiter Sohn des Arztes Dr. med. Hans-Jürgen Reiner und seiner Ehefrau, der Ärztin Luitgard Reiner, geb. Lenzner, in Berlin geboren. Von Ostern 1957 bis 1961 besuchte ich die Evangelische Grundschule in Berlin-Neukölln, von der ich zu Ostern 1961 nach bestandener Aufnahmeprüfung auf das Evangelische Gymnasium zum Grauen Kloster zu Berlin hinüberwechselte. Nach neun Schuljahren bestand ich hier am 14. 1. 1970 das Abitur.

Nach Ableistung meines Krankenpflegedienstes begann ich im Wintersemester 1970/71 an der Freien Universität Berlin das Studium der Humanmedizin. Im September 1971 legte ich das Vorphysikum und am 10. 4. 1973 die ärztliche Vorprüfung ab.

Nach dem ersten klinischen Semester wechselte ich zum Wintersemester 1973/74 an die Johann Gutenberg Universität in Mainz. Nach dem Tod meines Vaters kehrte ich zum Sommersemester 1974 wieder an die Freie Universität Berlin zurück. Am 24. 9. 1976 legte ich hier das Staatseyamen mit der Gesamtnote "sehr gut" ab.

Meine Medizinalassistentenzeit begann ich am 15. 10. 1976 am Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin, um anschließend die chirurgische Pflichtzeit am Krankenhaus Waldshut fortzusetzen.